

5^a
EDIÇÃO

BIOQUÍMICA

ILUSTRADA

richard a. harvey
denise r. ferrier



Equipe de tradução:

André Krumel Portella (Cap. 27)

Médico pediatra. Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente. Pós-doutorando pelo Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Carla Dalmaz (Caps. 1, 5, 6, 8-10, 19, 20, 26, 32, 33, Índice)

Professora associada do Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), UFRGS. Doutora em Bioquímica.

Carlos Alberto Saraiva Gonçalves (Caps. 17, 24)

Professor associado do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutor em Bioquímica.

Carlos Alexandre Sanchez Ferreira (Caps. 29-31)

Professor adjunto do Departamento de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica.

Carmem Gottfried (Caps. 2, 23)

Professora adjunta do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutora em Bioquímica.

Deusa Aparecida Vendite (Cap. 25)

Professora adjunta do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutora em Bioquímica.

Fátima T. Costa Rodrigues Guma (Cap. 18)

Professora associada do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutora em Bioquímica.

Giovana Duzzo Gamaro (Cap. 7)

Professora adjunta do Departamento de Bioquímica, Instituto de Química e Geociências, Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica.

Jorge Alberto Quillfeldt (Caps. 3, 21)

Orientador do Programa de Pós-graduação em Neurociências, ICBS, UFRGS. Professor titular do Departamento de Biofísica, Instituto de Biociências (IB), UFRGS. Doutor em Ciências Biológicas: Fisiologia.

Lauren Valentim (Cap. 4)

Professora do Departamento de Ciências Exatas e da Natureza, Colégio de Aplicação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Doutora em Bioquímica.

Letícia Ferreira Pettenuzzo (Cap. 28)

Pós-doutoranda pelo Programa de Pós-graduação em Bioquímica da UFRGS. Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica.

Márcia Rosângela Wink (Cap. 22)

Professora de Bioquímica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica.

Regina Pessoa Pureur (Cap. 15)

Professora associada do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutora em Bioquímica.

Regina Maria Vieira da Costa Guaragna (Cap. 16)

Professora associada do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutora em Bioquímica.

Vera Maria Treis Trindade (Caps. 11-14)

Professora associada do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Doutora em Bioquímica.

richard a. harvey, PhD

Professor Emeritus
Department of Biochemistry
University of Medicine and Dentistry of New Jersey –
Robert Wood Johnson Medical School
Piscataway, New Jersey

5^a
EDIÇÃO

denise r. ferrier, PhD

Professor
Department of Biochemistry and Molecular Biology
Drexel University College of Medicine
Philadelphia, Pennsylvania

BIOQUÍMICA

ILUSTRADA

Consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição:

Carla Dalmaz

Professora associada do Departamento de Bioquímica,
Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS),
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
Doutora em Bioquímica.

Versão impressa
desta obra: 2012



2012

Obra originalmente publicada sob o título
Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry, 5th Edition.
ISBN 9781609139988

Copyright © 2011 Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer Health did not participate in the translation of this title.

Published by arrangement with Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer Health Inc. USA

Os autores e editores desta obra empenharam seus esforços para unir informação completa e de acordo com os padrões aceitos à época da publicação. Entretanto, sempre verifique a bula que acompanha cada medicamento para se certificar de que o conteúdo desta publicação está correto e de que não houve mudanças na dose recomendada ou nas contraindicações, assim como, se necessário, consulte um médico ou especialista. As doses e a forma de aplicação dos medicamentos são de inteira responsabilidade do usuário.

Capa: *Márcio Monticelli*

Imagem de capa: *@iStockphoto.com/Shunyu Fan, 2010: Amino Acid Methionine*

Preparação de originais: *Mirela Favaretto*

Leitura final: *Ana Rachel Salgado e Mirela Favaretto*

Editora responsável por esta obra: *Patricia da Rosa Mazzoca*

Gerente editorial – Biociências: *Letícia Bispo de Lima*

Editoração: *Techbooks*

Imagens digitais originais: *Michael Cooper*

Cooper Graphics – www.cooper247.com

H341b Harvey, Richard A.
Bioquímica ilustrada [recurso eletrônico] / Richard A. Harvey, Denise R. Ferrier ; [tradução: André Krumel Portella ... et al.] ; revisão técnica: Carla Dalmaz. – 5. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2012.

Editado também como livro impresso 2012.
ISBN 978-85-363-2691-7

1. Bioquímica. I. Ferrier, Denise R. II. Título.

CDU 577



Catálogo na publicação: Ana Paula M. Magnus – CRB 10/2052

Reservados todos os direitos de publicação, em língua portuguesa, à
ARTMED EDITORA LTDA., divisão do GRUPO A EDUCAÇÃO S.A.
Av. Jerônimo de Ornelas, 670 – Santana
90040-340 – Porto Alegre – RS
Fone: (51) 3027-7000 Fax: (51) 3027-7070

É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, distribuição na Web e outros), sem permissão expressa da Editora.

Unidade São Paulo
Av. Embaixador Macedo Soares, 10.735 – Pavilhão 5 – Cond. Espace Center
Vila Anastácio – 05095-035 – São Paulo – SP
Fone: (11) 3665-1100 Fax: (11) 3667-1333

SAC 0800 703-3444 – www.grupoa.com.br

IMPRESSO NO BRASIL
PRINTED IN BRAZIL

Colaboradores (Capítulo 26)

Susan K. Fried, PHD

Professor

Department of Medicine

Section of Endocrinology, Diabetes and Nutrition

Boston University School of Medicine

Boston, Massachusetts

Richard B. Horenstein, MD

Assistant Professor

Department of Medicine

Division of Endocrinology, Diabetes and Nutrition

University of Maryland Medical Center

Baltimore, Maryland

Este livro é dedicado à memória de nossa
querida colega e amiga Pamela Champe,
cujo comprometimento com seus estudantes
e amor pela bioquímica a tornaram a mais
excepcional professora e mentora.

Sumário

UNIDADE I: Estrutura e Função das Proteínas

Capítulo 1:	Aminoácidos	1
Capítulo 2:	Estrutura das Proteínas	13
Capítulo 3:	Proteínas Globulares	25
Capítulo 4:	Proteínas Fibrosas	43
Capítulo 5:	Enzimas	53

UNIDADE II: Metabolismo Intermediário

Capítulo 6:	Bioenergética e Fosforilação Oxidativa	69
Capítulo 7:	Introdução aos Carboidratos	83
Capítulo 8:	Glicólise	91
Capítulo 9:	Ciclo do Ácido Cítrico	109
Capítulo 10:	Gliconeogênese	117
Capítulo 11:	Metabolismo do Glicogênio	125
Capítulo 12:	Metabolismo de Monossacarídeos e Dissacarídeos	137
Capítulo 13:	Via das Pentoses-Fosfato e NADPH	145
Capítulo 14:	Glicosaminoglicanos, Proteoglicanos e Glicoproteínas	157

UNIDADE III: Metabolismo dos Lipídeos

Capítulo 15:	Metabolismo dos Lipídeos da Dieta	173
Capítulo 16:	Metabolismo dos Ácidos Graxos e dos Triacilgliceróis	181
Capítulo 17:	Metabolismo dos Lipídeos Complexos	201
Capítulo 18:	Colesterol e Metabolismo dos Esteroides	219

UNIDADE IV: Metabolismo do Nitrogênio

Capítulo 19:	Aminoácidos: Destino do Nitrogênio	245
Capítulo 20:	Degradação e Síntese dos Aminoácidos	261
Capítulo 21:	Conversão dos Aminoácidos em Produtos Especializados	277
Capítulo 22:	Metabolismo dos Nucleotídeos	291

UNIDADE V: Integração do Metabolismo

Capítulo 23:	Efeitos Metabólicos da Insulina e do Glucagon	307
Capítulo 24:	O Ciclo Alimentado/Jejum	321
Capítulo 25:	Diabetes Mellito	337
Capítulo 26:	Obesidade	349
Capítulo 27:	Nutrição	357
Capítulo 28:	Vitaminas	373

UNIDADE VI: Armazenamento e Expressão da Informação Genética

Capítulo 29:	Estrutura, Replicação e Reparo do DNA	395
Capítulo 30:	Estrutura, Síntese e Processamento do RNA	417
Capítulo 31:	Síntese Proteica	431
Capítulo 32:	Regulação da Expressão Gênica	449
Capítulo 33:	Biotechnology e Doença Humana	465

Índice	489
Fontes das Figuras	520

UNIDADE I

Estrutura e Função das Proteínas

1

Aminoácidos

I. VISÃO GERAL

As proteínas são as moléculas mais abundantes e com maior diversidade de funções nos sistemas vivos. Praticamente todos os processos vitais dependem dessa classe de moléculas. Por exemplo, enzimas e hormônios polipeptídicos controlam e regulam o metabolismo corporal, enquanto proteínas contráteis no músculo permitem a realização dos movimentos. Nos ossos, a proteína colágeno forma uma estrutura para a deposição de cristais de fosfato de cálcio, atuando como as barras de aço no concreto armado. Na corrente sanguínea, proteínas como a hemoglobina e a albumina plasmática transportam moléculas essenciais para a vida, enquanto as imunoglobulinas combatem bactérias e vírus causadores potenciais de infecções. Em suma, as proteínas apresentam uma diversidade incrível de funções; todavia, todas têm em comum a característica estrutural de serem polímeros lineares de aminoácidos. Este capítulo descreve as propriedades dos aminoácidos; o Capítulo 2 mostra como esses blocos constitutivos simples são unidos para formar proteínas com estruturas tridimensionais singulares, tornando-as capazes de desempenhar funções biológicas específicas.

II. ESTRUTURA DOS AMINOÁCIDOS

Embora mais de 300 diferentes aminoácidos tenham sido descritos na natureza, apenas 20 deles são usualmente encontrados como constituintes de proteínas em mamíferos. (Nota: esses são os únicos aminoácidos codificados pelo DNA, o material genético da célula [veja a p. 395].) Cada aminoácido (exceto a prolina, que possui um grupo amino secundário) apresenta um grupo carboxila, um grupo amino primário e uma cadeia lateral que o distingue dos demais (o “grupo R”) ligados ao átomo de carbono α (Figura 1.1A). Em pH fisiológico (aproximadamente 7,4), o grupo carboxila encontra-se dissociado, formando o íon carboxilato, carregado negativamente ($-\text{COO}^-$), e o grupo amino encontra-se protonado ($-\text{NH}_3^+$). Nas proteínas, quase todos esses grupos carboxila e amino estão combinados nas ligações peptídicas e, em geral, não estão disponíveis para reações

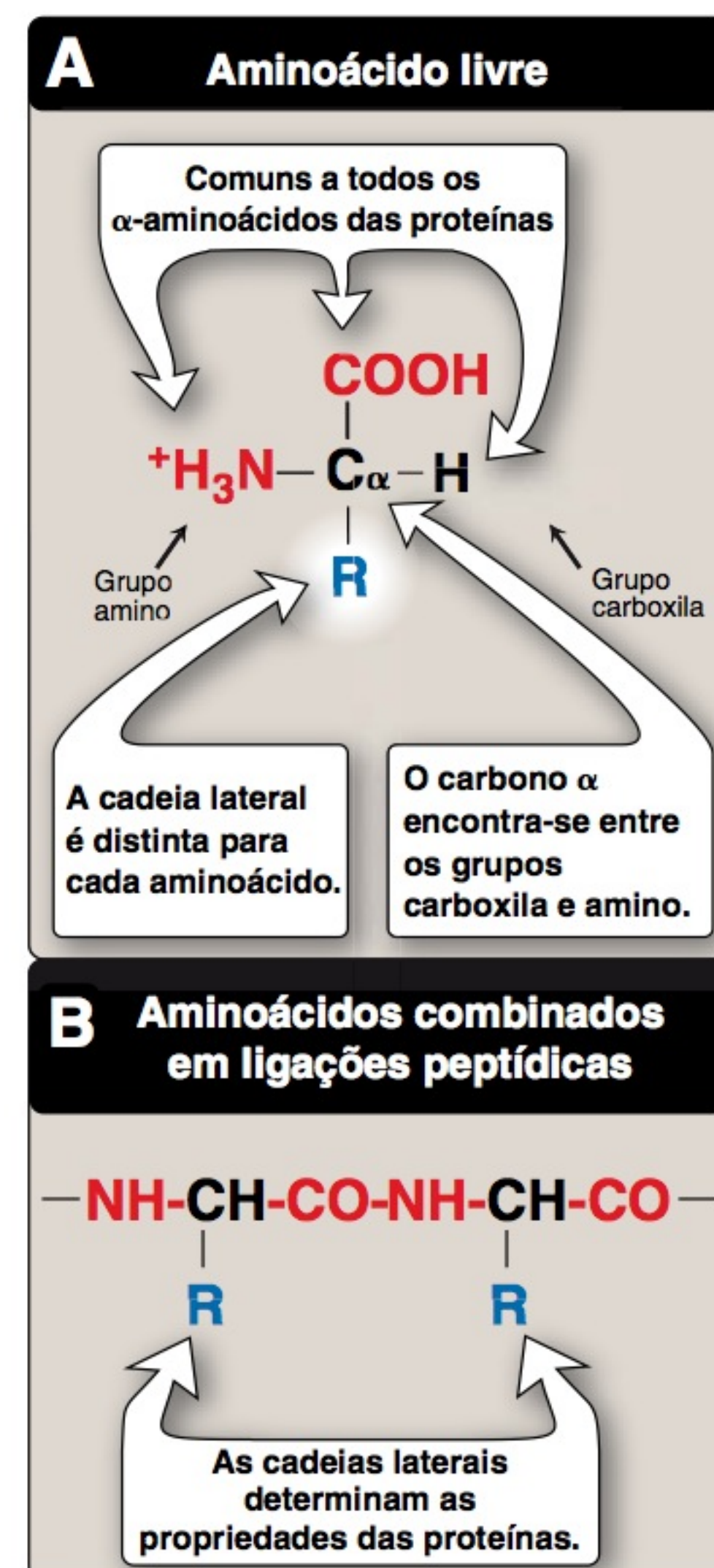


Figura 1.1

Características estruturais dos aminoácidos (mostrados em sua forma completamente protonada).

químicas, exceto pela possibilidade de formação de ligações de hidrogênio (Figura 1.1B). Portanto, em última análise, é a natureza dessas cadeias laterais que determina o papel do aminoácido na proteína. Por isso, é útil classificá-los de acordo com as propriedades de suas cadeias laterais – ou seja, se são apolares (apresentam distribuição homogênea de elétrons) ou polares (apresentam distribuição desigual de elétrons, como no caso de ácidos e bases; Figuras 1.2 e 1.3).

A. Aminoácidos com cadeias laterais apolares

Cada um desses aminoácidos possui uma cadeia lateral apolar, que é incapaz de receber ou doar prótons, de participar em ligações iônicas ou de hidrogênio (Figura 1.2). As cadeias laterais desses aminoácidos podem ser vistas como “oleosas”, ou semelhantes a lipídeos, uma propriedade que promove interações hidrofóbicas (veja a Figura 2.10, p. 19).

1. **Localização dos aminoácidos apolares nas proteínas.** Nas proteínas encontradas em soluções aquosas – um ambiente polar –, as

Cadeias laterais apolares

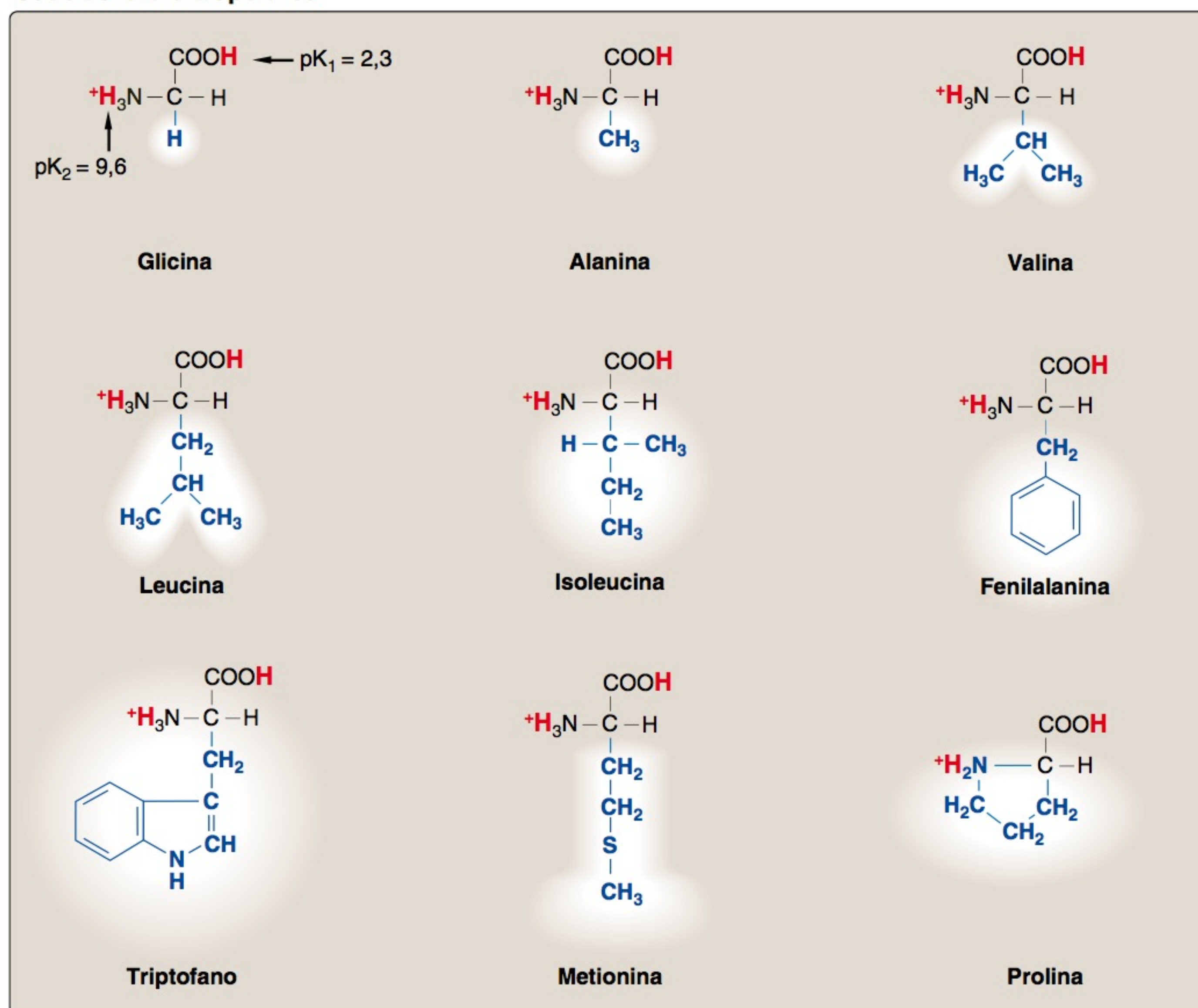
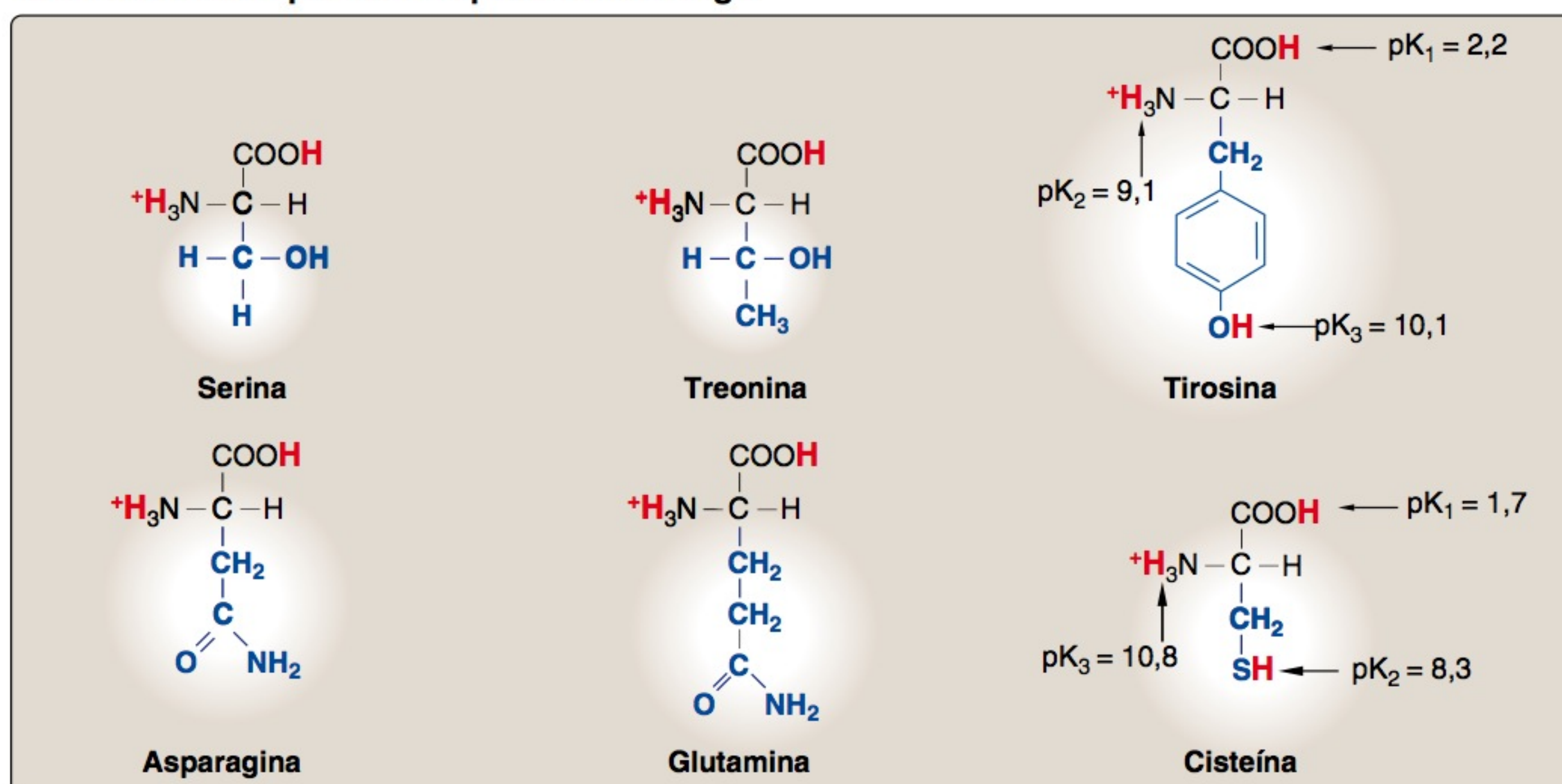


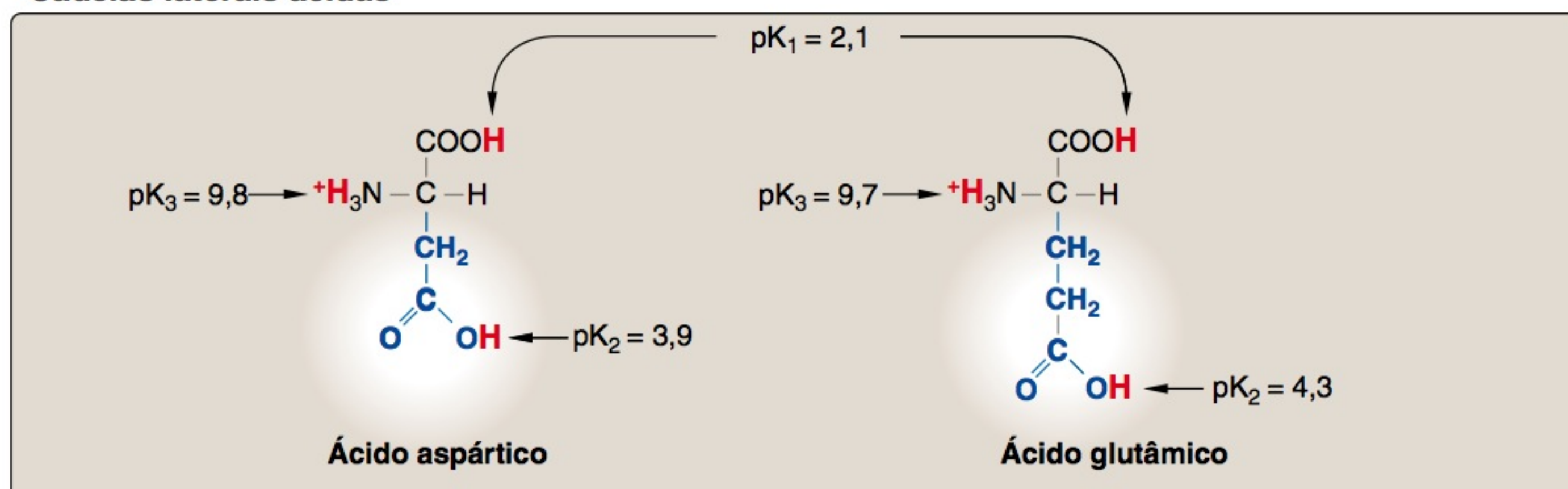
Figura 1.2

A classificação dos 20 aminoácidos comumente encontrados nas proteínas, de acordo com a carga e a polaridade de suas cadeias laterais em pH ácido, é mostrada aqui e continua na Figura 1.3. Cada aminoácido é mostrado em sua forma completamente protonada, com os íons hidrogênio dissociáveis representados em vermelho. Os valores de pK para os grupos α -carboxila e α -amino dos aminoácidos apolares são semelhantes àqueles mostrados para a glicina (*continua na Figura 1.3*).

Cadeias laterais polares desprovidas de carga



Cadeias laterais ácidas



Cadeias laterais básicas

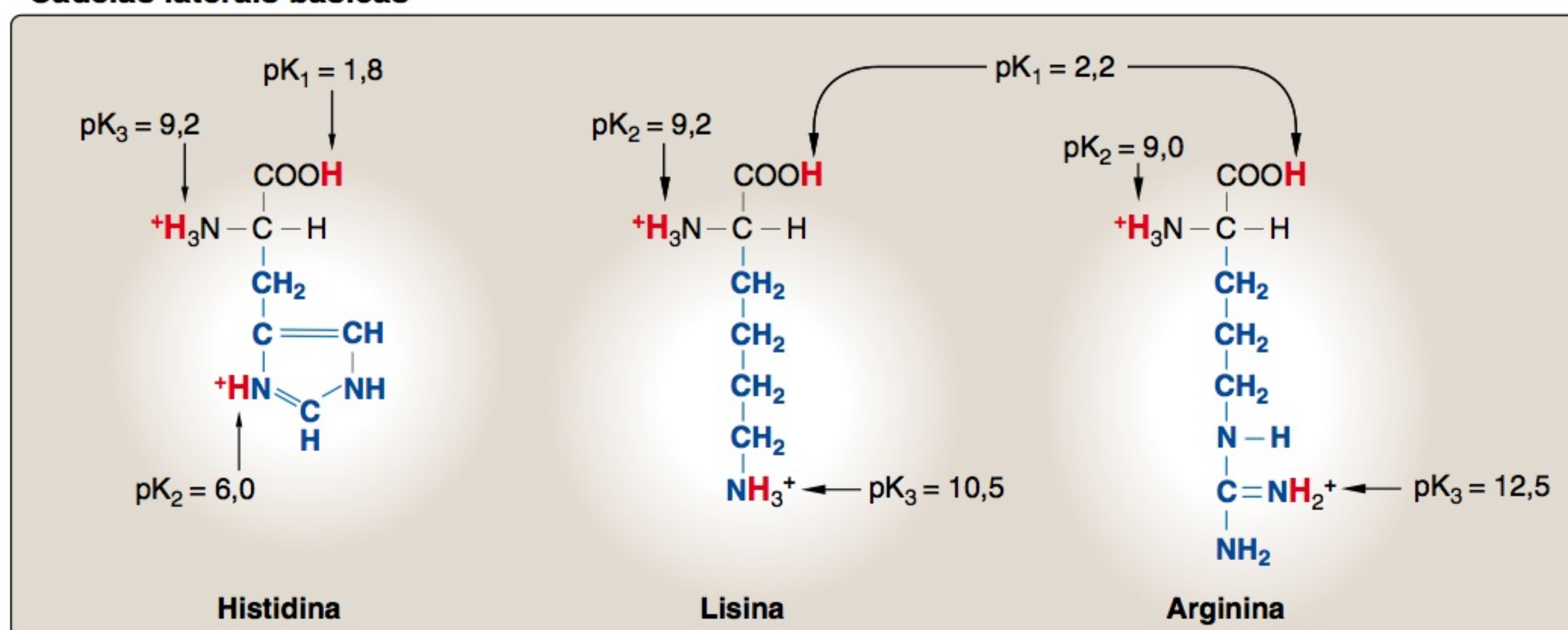
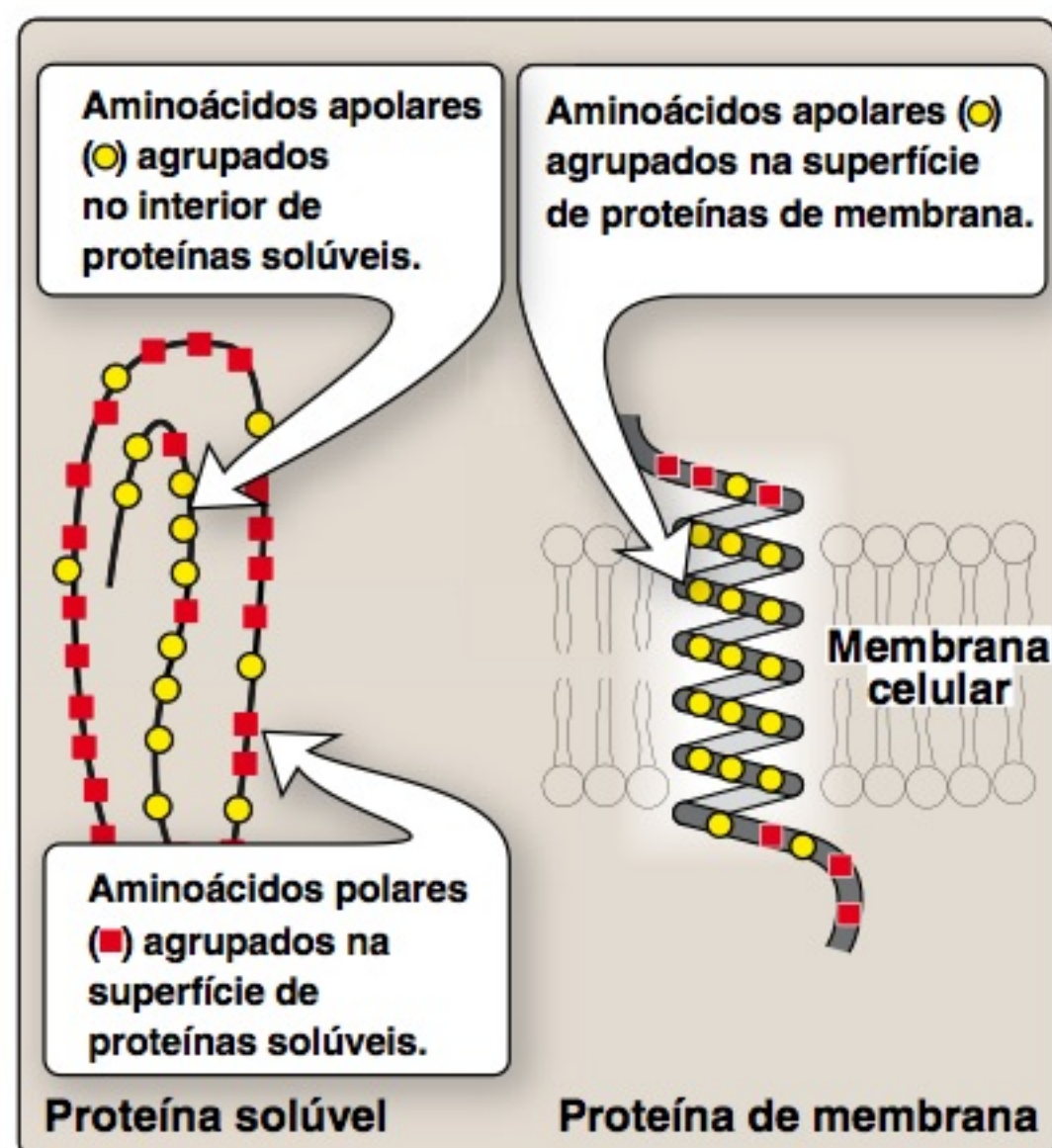
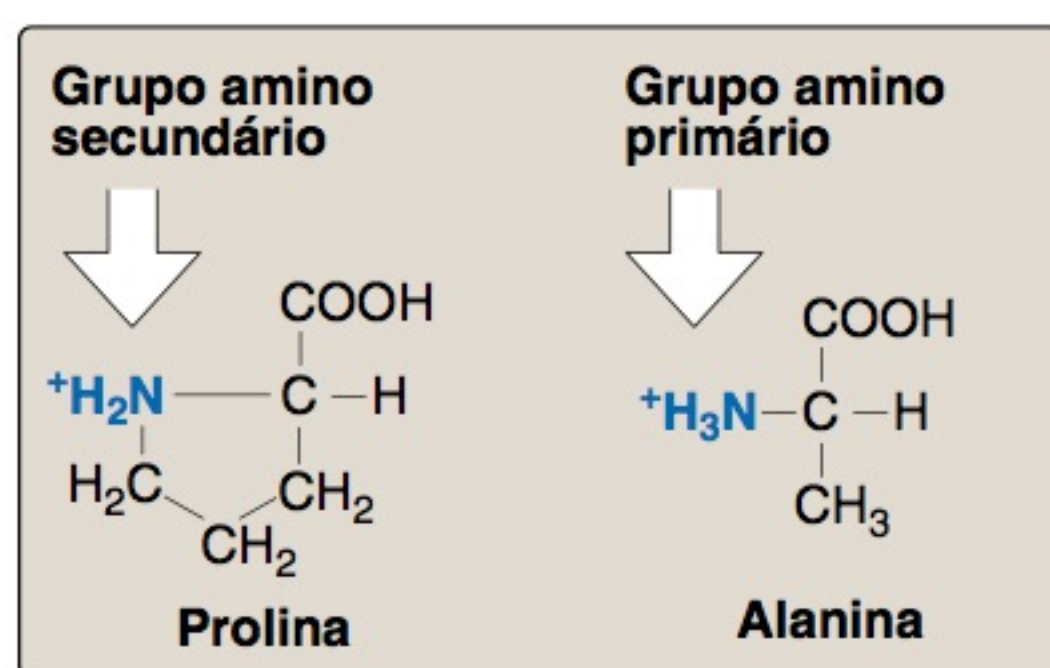


Figura 1.3

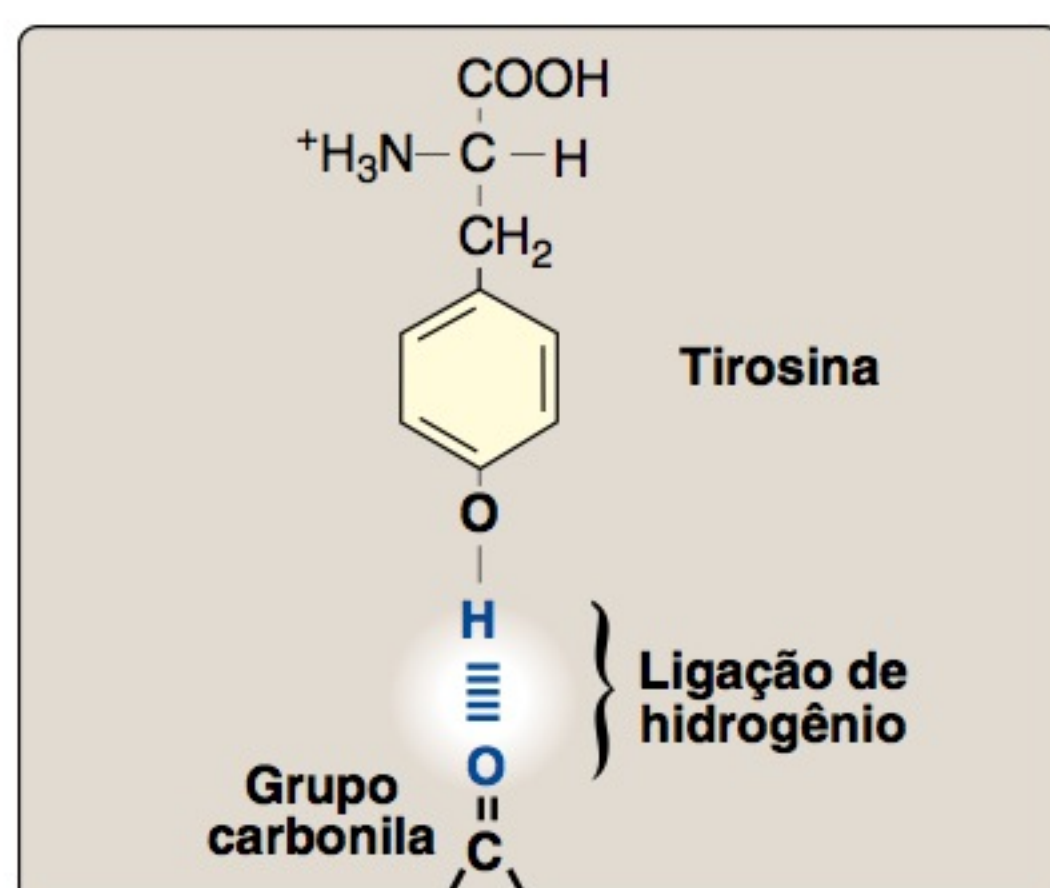
A classificação dos 20 aminoácidos comumente encontrados nas proteínas, de acordo com a carga e a polaridade de suas cadeias laterais em pH ácido (continuação da Figura 1.2).

**Figura 1.4**

Localização dos aminoácidos apolares em proteínas solúveis e de membrana.

**Figura 1.5**

Comparação entre o grupo amino secundário encontrado na prolina e o grupo amino primário encontrado em outros aminoácidos, como a alanina.

**Figura 1.6**

Ligação de hidrogênio entre o grupo hidroxila fenólico da tirosina e outra molécula contendo um grupo carbonila.

cadeias laterais apolares dos aminoácidos tendem a agrupar-se no interior da proteína (Figura 1.4). Esse fenômeno, conhecido como efeito hidrofóbico, é o resultado da hidrofobicidade dos grupos R apolares, que atuam como gotículas de óleo coalescendo em ambiente aquoso. Desse modo, os grupos R apolares preenchem o interior da proteína à medida que ela se dobra e ajudam a estabelecer sua forma tridimensional. Entretanto, nas proteínas localizadas em ambiente hidrofóbico, como o interior de uma membrana, os grupos R apolares são encontrados na superfície da proteína, interagindo com o ambiente lipídico (veja a Figura 1.4). A importância dessas interações hidrofóbicas para a estabilização da estrutura proteica é discutida na p. 19.

A anemia falciforme, uma doença caracterizada pela forma em foice dos eritrócitos do paciente, resultante da substituição do glutamato, um aminoácido com grupo R polar, pelo aminoácido valina, com grupo R apolar, na posição 6 da subunidade β da hemoglobina (veja na p. 36).

2. **Prolina.** A cadeia lateral da prolina e seu N α -amínico formam uma estrutura rígida em anel, com 5 átomos, de modo que esse aminoácido difere dos demais (Figura 1.5). A prolina, portanto, apresenta um grupo amino secundário, e não primário, sendo frequentemente denominada de iminoácido. A geometria sem igual da molécula da prolina contribui para a formação da estrutura fibrosa do colágeno (veja a p. 45) e, com frequência, interrompe as hélices α encontradas em proteínas globulares (veja a p. 26).

B. Aminoácidos com cadeias laterais polares, desprovidas de carga elétrica

Esses aminoácidos apresentam carga líquida igual a zero em pH neutro, embora as cadeias laterais da cisteína e da tirosina possam perder um próton em pH alcalino (Figura 1.3). Cada um dos aminoácidos serina, treonina e tirosina, contém um grupo hidroxila polar que pode participar da formação de ligações de hidrogênio (Figura 1.6). Cada cadeia lateral da asparagina e da glutamina contém um grupo carbonila e um grupo amida, que podem também participar de ligações de hidrogênio.

1. **Ligação dissulfeto.** A cadeia lateral da cisteína contém um grupo sulfidríla ($-SH$), componente importante do sítio ativo de muitas enzimas. Nas proteínas, os grupos $-SH$ de duas cisteínas podem oxidar-se e formar um dímero, a cistina, que contém uma ligação cruzada denominada ponte dissulfeto ($-S-S-$) (para discussão sobre a formação da ligação dissulfeto; veja a p. 19).

Muitas proteínas extracelulares são estabilizadas por ligações dissulfeto. Um exemplo é a albumina, uma proteína do plasma sanguíneo que funciona como transportadora de uma grande variedade de moléculas.

2. Cadeias laterais como sítios de ligação para outros compostos.

O grupo hidroxila polar da serina, da treonina e, mais raramente, da tirosina pode servir como sítio de ligação para estruturas, como o grupo fosfato. Além disso, o grupo amida da asparagina e os grupos hidroxila da serina e da treonina podem servir como sítio de ligação para cadeias de oligossacarídeos nas glicoproteínas (veja a p. 165).

C. Aminoácidos com cadeias laterais ácidas

Os aminoácidos ácido aspártico e ácido glutâmico são doadores de prótons. Em pH fisiológico, as cadeias laterais desses aminoácidos estão completamente ionizadas, com um grupo carboxilato carregado negativamente ($-\text{COO}^-$). Esses aminoácidos são, portanto, denominados aspartato e glutamato, para enfatizar o fato de estarem carregados negativamente em pH fisiológico (Figura 1.3).

D. Aminoácidos com cadeias laterais básicas

As cadeias laterais dos aminoácidos básicos são aceptoras de prótons (Figura 1.3). Em pH fisiológico, as cadeias laterais da lisina e da arginina estão completamente ionizadas, com carga positiva. Em contraste, a histidina é fracamente básica, e, em geral, o aminoácido livre não apresenta carga elétrica em pH fisiológico. Entretanto, quando a histidina encontra-se incorporada em uma proteína, sua cadeia lateral pode apresentar carga positiva ou neutra, dependendo do ambiente iônico fornecido pelas cadeias polipeptídicas da proteína. Essa é uma propriedade importante da histidina e contribui para o papel que esse aminoácido desempenha no funcionamento de proteínas, como a hemoglobina (veja a p. 31).

E. Abreviaturas e símbolos para os aminoácidos de ocorrência mais frequente

O nome de cada aminoácido possui uma abreviatura associada de três letras e um símbolo de uma letra (Figura 1.7). Os códigos de uma letra são determinados pelas seguintes regras:

- 1. Primeira letra única.** Se apenas um aminoácido começa com determinada letra, então aquela letra é utilizada como seu símbolo. Por exemplo, I = isoleucina.
- 2. Os aminoácidos de ocorrência mais frequente têm prioridade.** Se mais de um aminoácido começam com determinada letra, o aminoácido de ocorrência mais frequente recebe aquela letra como símbolo. Por exemplo, a glicina é mais frequente que o glutamato, então G = glicina.
- 3. Nomes com sons semelhantes.** Alguns símbolos de uma letra soam, em inglês, de forma semelhante ao início do nome do aminoácido que representam. Por exemplo, F = fenilalanina, ou W = triptofano ("tryptophan", como diria Elmer Fudd).
- 4. Letra próxima à letra inicial.** Para os demais aminoácidos, é atribuído um símbolo de uma letra, tão próxima quanto possível no alfabeto à letra inicial do nome daquele aminoácido. Por exemplo, K = lisina. Além disso, a letra B é atribuída ao Asx, significando tanto ácido aspártico quanto asparagina; o Z é atribuído ao Glx, significando tanto ácido glutâmico quanto glutamina; e o X é atribuído a um aminoácido não identificado.

1 Primeira letra única:

Cisteína	=	Cys	=	C
Histidina	=	His	=	H
Isoleucina	=	Ile	=	I
Metionina	=	Met	=	M
Serina	=	Ser	=	S
Valina	=	Val	=	V

2 Os aminoácidos de ocorrência mais frequente têm prioridade

Alanina	=	Ala	=	A
Glicina	=	Gly	=	G
Leucina	=	Leu	=	L
Prolina	=	Pro	=	P
Treonina	=	Thr	=	T

3 Nomes com sons semelhantes

Arginina	=	Arg	=	R ("aRginine")
Asparagina	=	Asn	=	N (contém N)
Aspartato	=	Asp	=	D ("asparDic")
Glutamato	=	Glu	=	E ("glutEmate")
Glutamina	=	Gln	=	Q ("Q-tamine")
Fenilalanina	=	Phe	=	F ("Fenilalanina")
Tirosina	=	Tyr	=	Y ("tYrosine")
Triptofano	=	Trp	=	W (duplo anel na molécula)

4 Letra próxima à letra inicial

Aspartato ou asparagina	=	Asx	=	B (próxima do A)
Glutamato ou glutamina	=	Glx	=	Z
Lisina	=	Lys	=	K (próxima do L)
Aminoácido indeterminado	=		=	X

Figura 1.7

Abreviaturas e símbolos para os aminoácidos de ocorrência mais frequente.

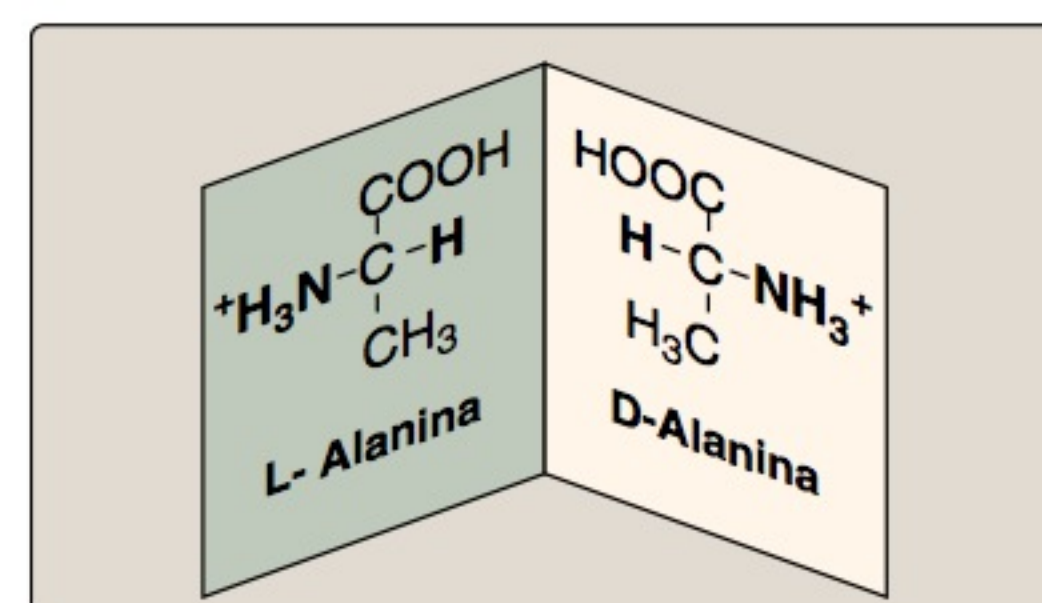


Figura 1.8

As formas D e L da alanina são imagens especulares (imagens no espelho).

F. Propriedades ópticas dos aminoácidos

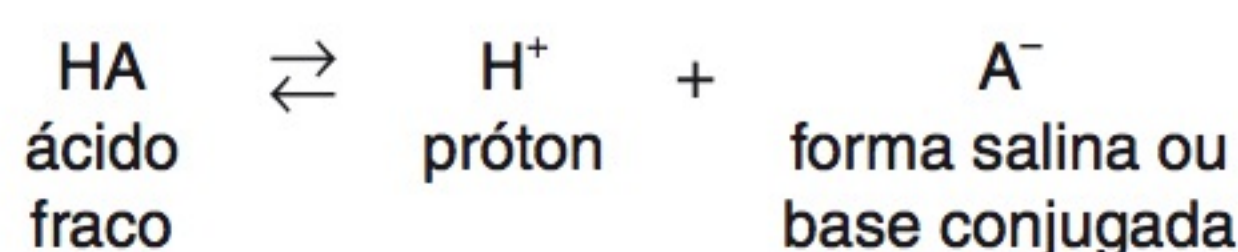
O carbono α de cada aminoácido está ligado a quatro grupos químicos diferentes e, portanto, é um átomo de carbono quiral ou opticamente ativo. A glicina é a exceção, pois seu carbono α apresenta dois átomos de hidrogênio como substituintes e, assim, é opticamente inativa. Os aminoácidos que apresentam um centro assimétrico em seu carbono α podem existir em duas formas, designadas D e L, que são imagens especulares uma da outra (Figura 1.8). As duas formas, em cada par, são denominadas estereoisômeros, isômeros ópticos ou enantiômeros. Todos os aminoácidos encontrados nas proteínas apresentam a configuração L. Os D-aminoácidos, no entanto, são encontrados em alguns antibióticos e em paredes celulares de plantas e bactérias (veja, na p. 253, uma discussão acerca do metabolismo de D-aminoácidos).

III. PROPRIEDADES ACIDOBÁSICAS DOS AMINOÁCIDOS

Em solução aquosa, os aminoácidos contêm grupos α -carboxila fracamente ácidos e grupos α -amino fracamente básicos. Além disso, cada aminoácido ácido e cada aminoácido básico contém um grupo ionizável na cadeia lateral. Assim, tanto os aminoácidos livres quanto alguns aminoácidos combinados por meio de ligações peptídicas podem atuar como tampões. Lembre-se que os ácidos podem ser definidos como doadores de prótons e as bases comoceptoras de prótons. Ácidos (ou bases) são descritos como “fracos” quando ionizam em proporção limitada. A concentração de prótons em solução aquosa é expressa como pH, onde $\text{pH} = \log 1/[\text{H}^+]$ ou $-\log[\text{H}^+]$. A relação quantitativa entre o pH da solução e a concentração de um ácido fraco (HA) e sua base conjugada (A^-) é descrita pela equação de Henderson-Hasselbalch.

A. Derivação da equação

Considere a liberação de um próton por um ácido fraco, representado por HA:



O “sal” ou base conjugada, A^- , é a forma ionizada de um ácido fraco. Por definição, a constante de dissociação do ácido, K_a , é

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

(Nota: quanto maior o K_a , mais forte o ácido, pois indica que a maior parte de HA dissociou-se em H^+ e A^- . Por sua vez, quanto menor o K_a , menos ácido foi dissociado e, portanto, mais fraco é o ácido.) Se isolarmos $[\text{H}^+]$ na equação anterior, tomando o logaritmo de ambos os lados da equação, multiplicando ambos os lados por -1 e substituindo $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ e $\text{p}K_a = -\log K_a$, obteremos a equação de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

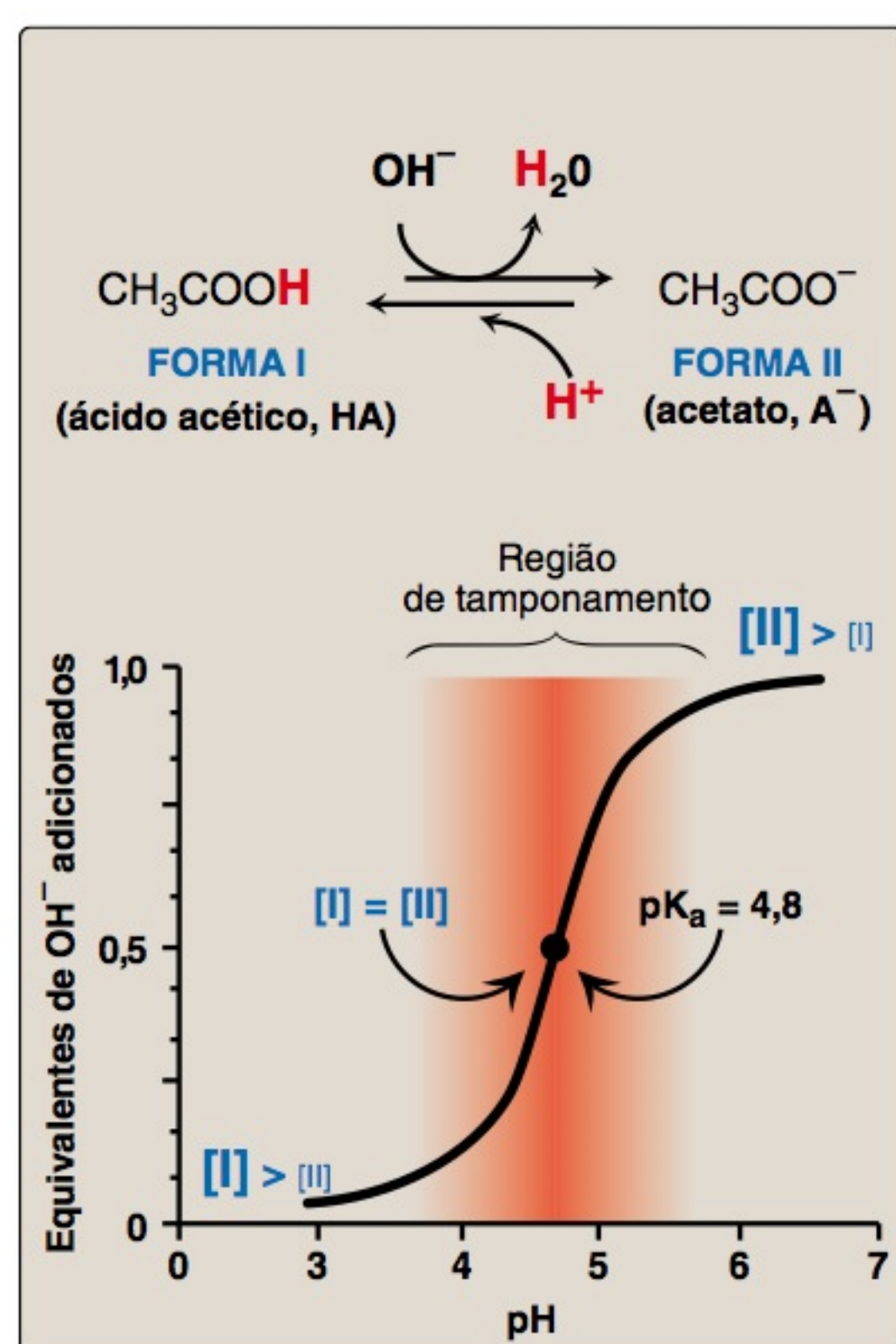
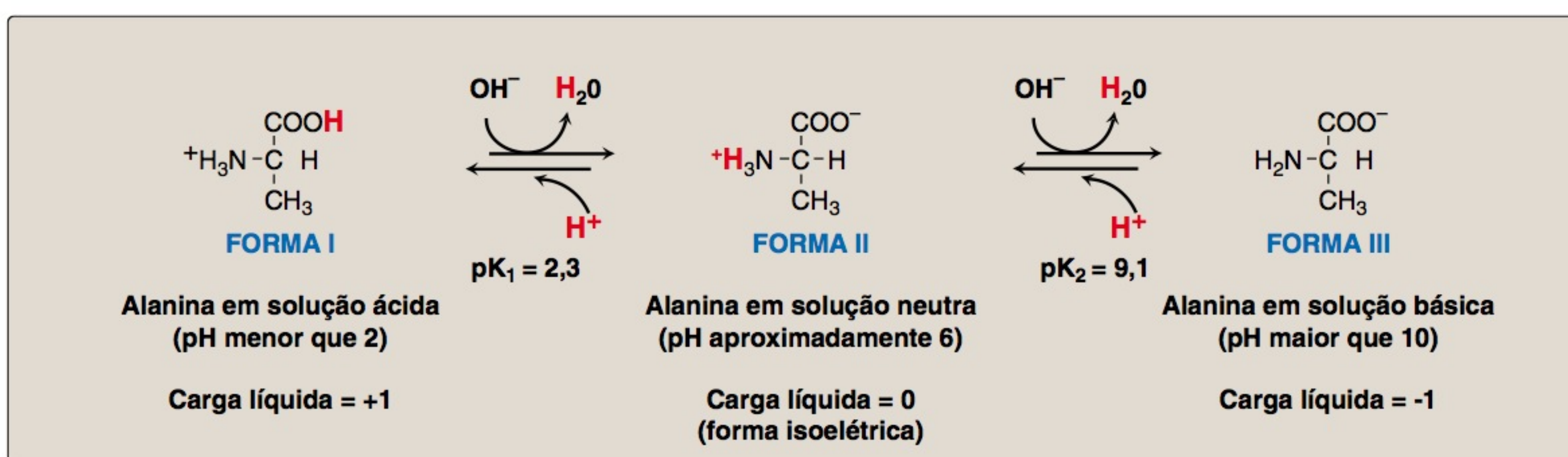


Figura 1.9

Curva de titulação do ácido acético.


Figura 1.10

Formas iônicas da alanina em soluções ácida, neutra e básica.

B. Tampões

Um tampão é uma solução que resiste a mudanças de pH quando se adicionam pequenas quantidades de ácido ou base. O tampão pode ser produzido pela mistura de um ácido fraco (HA) com sua base conjugada (A^-). Se um ácido, como o HCl, for adicionado a tal solução, pode ser neutralizado pelo A^- , que no processo é convertido em HA. Se uma base for adicionada, o HA pode neutralizá-la, sendo convertido em A^- nesse processo. A capacidade tamponante máxima ocorre quando o pH for igual ao pK_a , mas um par conjugado ácido/base ainda pode servir como tampão efetivo quando o pH da solução estiver até ± 1 unidade de pH afastado do pK_a . Se as quantidades de HA e A^- forem iguais, o pH é igual ao pK_a . Como mostrado na Figura 1.9, uma solução contendo ácido acético ($\text{HA} = \text{CH}_3\text{COOH}$) e acetato ($\text{A}^- = \text{CH}_3\text{COO}^-$), com pK_a de 4,8, resiste a mudanças no pH entre os pHs 3,8 e 5,8, com capacidade tamponante máxima no pH 4,8. Em pHs abaixo do pK_a , a forma ácida protonada [CH_3COOH] é a forma predominante. Em pHs acima do pK_a , a forma básica não protonada [CH_3COO^-] é a forma predominante na solução.

C. Titulação de um aminoácido

- 1. Dissociação do grupo carboxila.** A curva de titulação de um aminoácido pode ser analisada como descrito anteriormente para o ácido acético. Considere a alanina, por exemplo. Esse aminoácido contém um grupo α -carboxila e um grupo α -amino. Em pHs baixos (ácidos), os dois grupos encontram-se protonados (como mostrado na Figura 1.10). À medida que o pH da solução é aumentado, o grupo $-\text{COOH}$ da Forma I pode dissociar-se, doando um próton ao meio. A liberação do próton resulta na formação do grupo carboxilato, $-\text{COO}^-$. Essa estrutura é mostrada como a Forma II (a forma dipolar da molécula, está ilustrada na Figura 1.10). Também denominada zwitterion, essa é a forma isoelétrica da alanina, ou seja, possui carga líquida igual a zero.
- 2. Aplicação da equação de Henderson-Hasselbalch.** A constante de dissociação do grupo carboxila de um aminoácido é denominada K_1 , e não K_a , pois a molécula contém um segundo grupo titulável. A equação de Henderson-Hasselbalch pode ser utilizada para analisar a dissociação do grupo carboxila da alanina, do mesmo modo descrito para o ácido acético:

$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{II}]}{[\text{I}]}$$

onde I é a forma completamente protonada da alanina e II é a forma isoelétrica da alanina (Figura 1.10). Essa equação pode ser rearranjada e convertida em sua forma logarítmica para dar:

$$\text{pH} = \text{pK}_1 + \log \frac{[\text{II}]}{[\text{I}]}$$

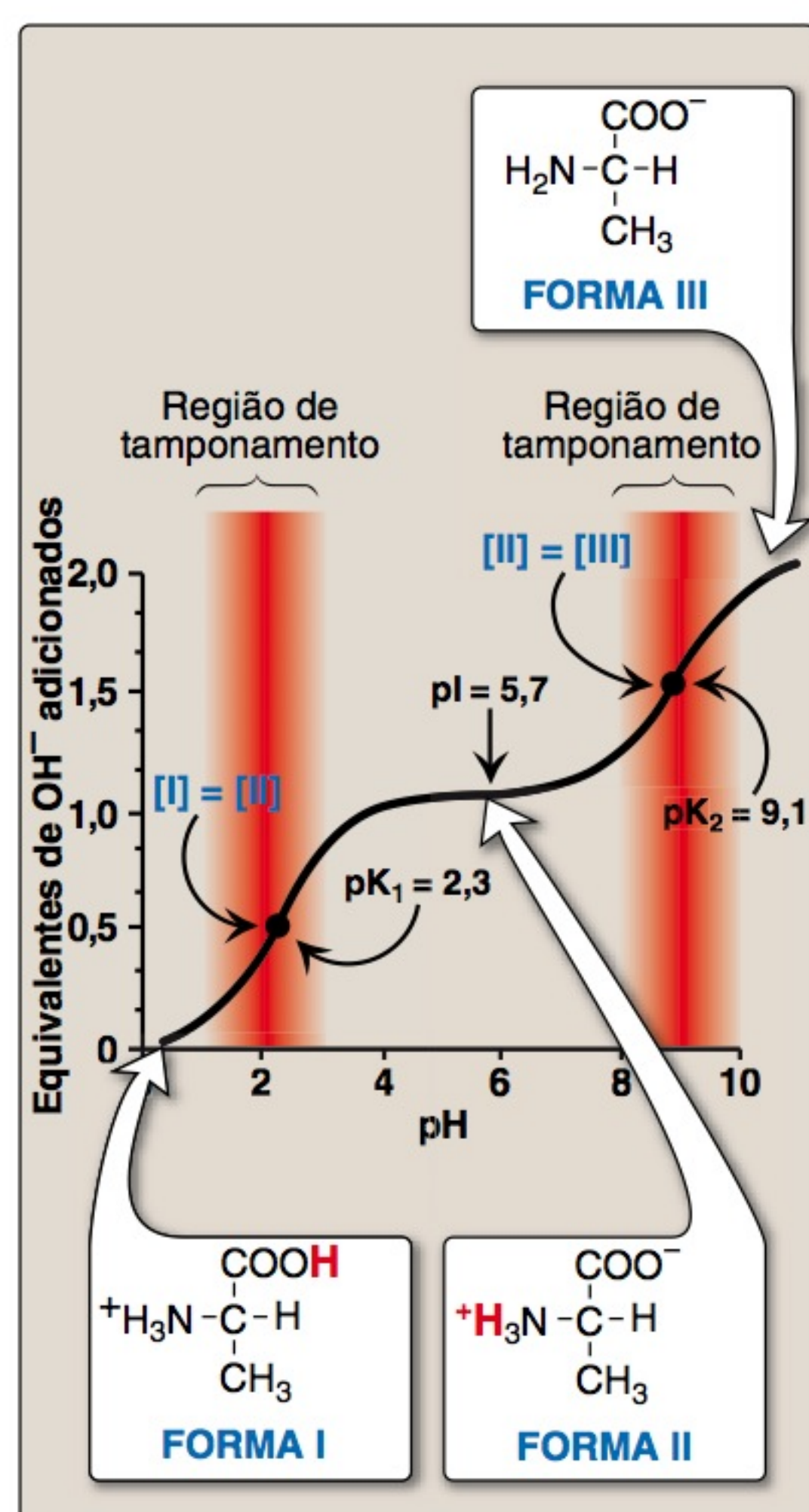


Figura 1.11

Curva de titulação da alanina.

3. **Dissociação do grupo amino.** O segundo grupo titulável da alanina é o grupo amino ($-\text{NH}_3^+$), mostrado na Figura 1.10. É um ácido muito mais fraco que o grupo $-\text{COOH}$; portanto, apresenta constante de dissociação muito menor, K_2 . (Nota: seu pK_a , portanto, é maior.) A liberação de um próton pelo grupo amino protonado da Forma II resulta na forma completamente desprotonada da alanina, a Forma III (Figura 1.10).
4. **pKs da alanina.** A dissociação sequencial de prótons dos grupos carboxila e amino da alanina está resumida na Figura 1.10. Cada grupo titulável apresenta um pK_a numericamente igual ao pH no qual exatamente metade dos prótons foram removidos daquele grupo. O pK_a para o grupo mais ácido ($-\text{COOH}$) é o pK_1 , enquanto o pK_a para o grupo ácido seguinte ($-\text{NH}_3^+$) é o pK_2 .
5. **Curva de titulação da alanina.** Pela aplicação da equação de Henderson-Hasselbalch a cada grupo ácido dissociável, é possível calcular a curva de titulação completa de um ácido fraco. A Figura 1.11 mostra a variação no pH que ocorre durante a adição de base à forma completamente protonada da alanina (I), até produzir a forma completamente desprotonada (III). Observe o seguinte:
 - a. **Pares tampões.** O par $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ pode servir como tampão na região de pH ao redor do pK_1 , e o par $-\text{NH}_3^+/-\text{NH}_2$ pode tamponar na região ao redor do pK_2 .
 - b. **Quando $\text{pH} = \text{pK}$.** Quando o pH é igual ao pK_1 (2,3), existem na solução quantidades iguais das Formas I e II da alanina. Quando o pH é igual ao pK_2 (9,1), estão presentes na solução quantidades iguais das Formas II e III.
 - c. **Ponto isoelétrico.** Em pH neutro, a alanina existe predominantemente como a Forma dipolar II, em que os grupos amino e carboxila estão ionizados, mas a carga líquida é zero. O ponto isoelétrico (pI) é o pH no qual um aminoácido é eletricamente neutro, ou seja, a soma das cargas positivas é igual à soma das cargas negativas. Para um aminoácido como a alanina, por exemplo, que apresenta apenas dois hidrogênios dissociáveis (um do grupo α -carboxila e um do grupo α -amino), o pI é a média entre pK_1 e pK_2 ($\text{pI} = [2,3 + 9,1]/2 = 5,7$, Figura 1.11). Assim, o pI está a meio caminho entre o pK_1 (2,3) e o pK_2 (9,1). Ele corresponde ao pH em que predomina a Forma II (com carga líquida igual a zero) e em que há também quantidades iguais das Formas I (carga líquida +1) e III (carga líquida -1).

A separação de proteínas plasmáticas por meio de cargas elétricas é realizada tipicamente em pH acima do ponto isoelétrico (pI) das principais proteínas, de modo que a carga dessas proteínas é negativa. Em um campo elétrico, as proteínas movem-se no sentido do eletrodo positivo, a uma velocidade determinada por sua carga negativa líquida. Variações nos padrões de mobilidade são indícios de certas doenças.

6. Carga líquida dos aminoácidos em pH neutro. Em pH fisiológico, todos os aminoácidos apresentam um grupo carregado negativamente ($-\text{COO}^-$) e um grupo carregado positivamente ($-\text{NH}_3^+$), ambos ligados ao carbono α . (Nota: os aminoácidos glutamato, aspartato, histidina, arginina e lisina apresentam, além desses, outros grupos potencialmente carregados em suas cadeias laterais.) Substâncias como os aminoácidos, que podem atuar como ácidos ou bases, são classificadas como anfotéricas e chamadas de anfólitos (eletrólitos anfotéricos).

D. Outras aplicações da equação de Henderson-Hasselbalch

A equação de Henderson-Hasselbalch pode ser utilizada para calcular de que maneira o pH de uma solução fisiológica responde a mudanças na concentração de um ácido fraco e/ou de sua correspondente forma de “sal”. Por exemplo, no sistema tampão do bicarbonato, a equação de Henderson-Hasselbalch prevê de que modo mudanças na concentração do íon bicarbonato $[\text{HCO}_3^-]$ e na pCO_2 influenciam o pH (Figura 1.12A). A equação é útil também para calcular as quantidades das formas iônicas de drogas com características ácidas e básicas. Por exemplo, muitos fármacos são ácidos fracos ou bases fracas (Figura 1.12B). Fármacos ácidos (HA) liberam um próton (H^+), determinando a formação de um ânion carregado (A^-).



Bases fracas (BH^+) também podem liberar um H^+ . A forma protonada dos fármacos básicos, no entanto, normalmente possui carga elétrica, e a perda de um próton produz a base desprovida de carga (B).



Um fármaco passa através de membranas com mais facilidade quando não apresenta carga elétrica. Assim, para um ácido fraco como a aspirina, a forma desprovida de carga HA consegue permear através das membranas, enquanto A^- não consegue. Para uma base fraca como a morfina, por exemplo, a forma desprovida de carga, B, atravessa membranas celulares, enquanto BH^+ não o faz. Portanto, a concentração efetiva da forma permeável de cada fármaco em seu sítio de absorção é determinada pelas concentrações relativas das formas carregada e desprovida de carga. A razão entre as duas formas é, por sua vez, determinada pelo pH no sítio de absorção e pela força do ácido fraco ou da base fraca, representada pelo pK_a do grupo ionizável. A equação de Henderson-Hasselbalch é útil para a determinação da quantidade de fármaco encontrada em cada lado de uma membrana entre dois compartimentos com diferença de pH, por exemplo, o estômago (pH 1,0 a 1,5) e o plasma sanguíneo (pH 7,4).

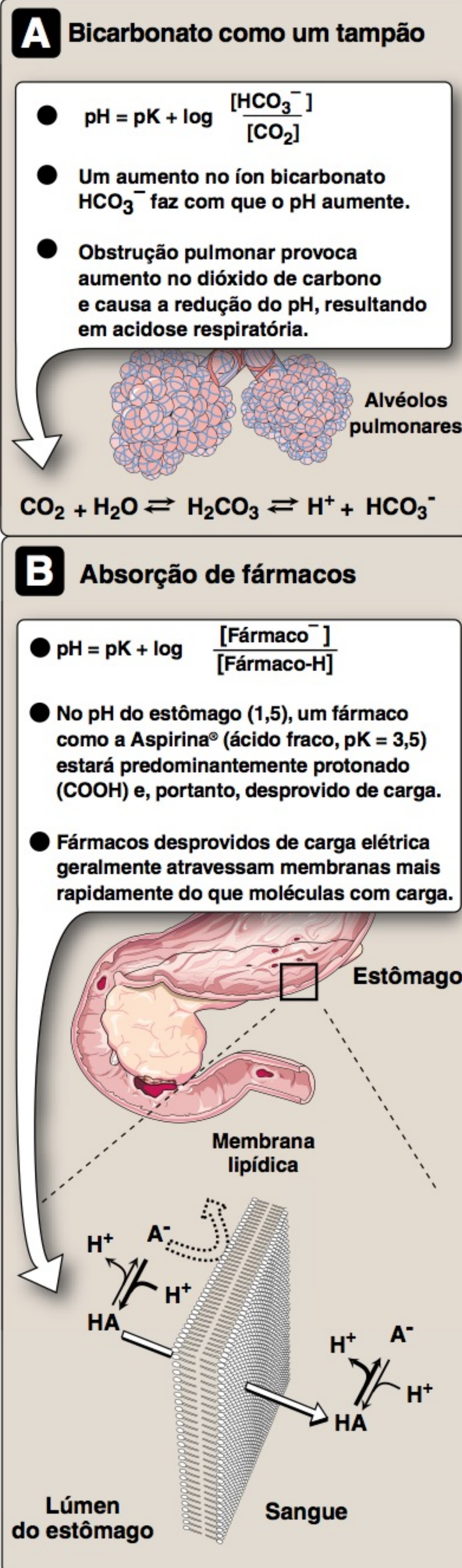


Figura 1.12

A equação de Henderson-Hasselbalch é utilizada para prever: (A) variações no pH, à medida que as concentrações de HCO_3^- ou CO_2 são alteradas; ou (B) as formas iônicas das substâncias.

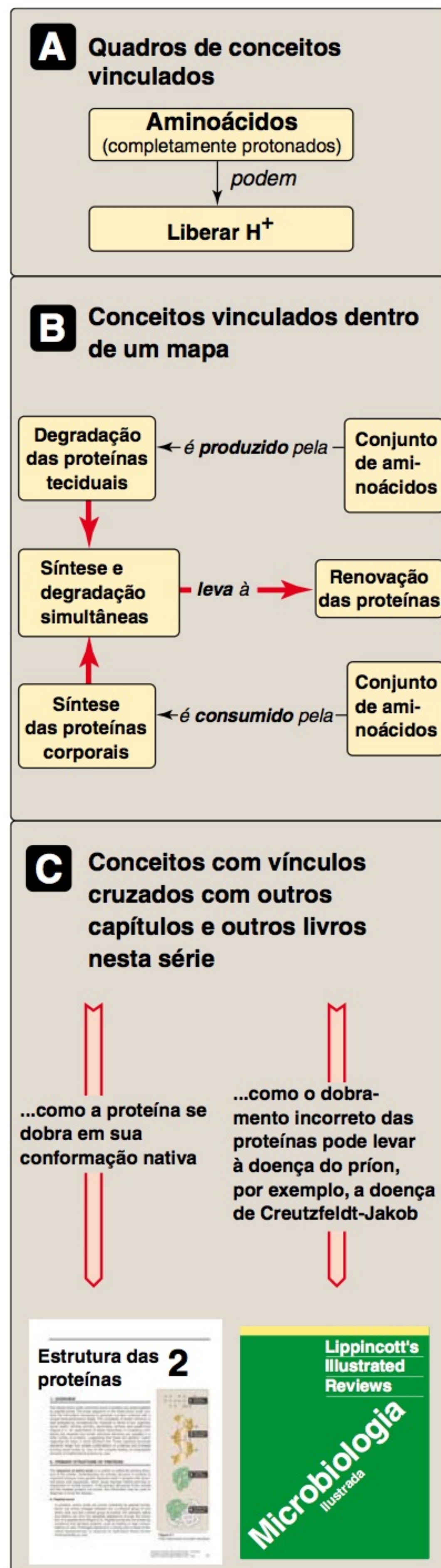


Figura 1.13

Símbolos utilizados nos mapas de conceitos-chave.

IV. MAPAS CONCEITUAIS

Os estudantes às vezes encaram a Bioquímica como uma série nebulosa de fatos ou equações a serem memorizadas, e não como um conjunto de conceitos a serem compreendidos. Detalhes fornecidos com a finalidade de enriquecer a compreensão desses conceitos tornam-se, inadvertidamente, fontes de distração. Parece estar faltando um mapa do caminho, um guia que forneça aos estudantes uma compreensão intuitiva de como vários tópicos encaixam-se para fazer sentido. Pensando assim, os autores criaram uma série de mapas de conceitos-chave bioquímicos, que ilustram graficamente as relações entre as ideias apresentadas no capítulo e mostram como a informação pode ser agrupada ou organizada. O mapa conceitual é, portanto, uma ferramenta para visualizar as conexões entre os conceitos. O material é apresentado de maneira hierárquica, com os conceitos mais gerais e inclusivos no topo do mapa e os conceitos mais específicos e menos gerais abaixo. De modo ideal, os mapas conceituais funcionam como matrizes ou guias para organizar as informações, de forma que os estudantes possam encontrar com facilidade as melhores maneiras de integrar as novas informações ao conhecimento já consolidado.

A. Como é construído um mapa de conceitos-chave?

- 1. Quadros de conceitos vinculados.** Os educadores definem conceitos como “regularidades percebidas em eventos ou objetos”. Em nossos mapas bioquímicos, os conceitos incluem abstrações (p. ex., energia livre), processos (p. ex., fosforilação oxidativa) e compostos (p. ex., glicose-6-fosfato). Os conceitos de definição mais ampla são priorizados, com a ideia central posicionada no topo da página. Os conceitos que seguem a partir dessa ideia central são delineados em quadros (Figura 1.13A). O tamanho da letra indica a importância relativa de cada ideia. Linhas são desenhadas entre os quadros dos conceitos para mostrar quais estão relacionados. A legenda na linha define a relação entre dois conceitos, de modo que se lê uma afirmação válida, ou seja, a conexão passa a ter sentido. As setas nas linhas indicam em que sentido a conexão deve ser lida (Figura 1.14).
- 2. Vínculos cruzados.** Ao contrário dos padrões ou diagramas de fluxo linear, os mapas de conceitos-chave podem conter vínculos cruzados, que permitem ao leitor visualizar relações complexas entre as ideias representadas em diferentes partes do mapa (Figura 1.13B) ou entre o mapa e os outros capítulos deste livro ou em outros livros desta série (Figura 1.13C). Vínculos cruzados podem assim identificar conceitos centrais para mais de uma disciplina, oferecendo aos estudantes mais eficiência em situações clínicas ou em outros exames com características multidisciplinares. Os estudantes aprendem a perceber visualmente relações não lineares entre os fatos, em contraste com referências cruzadas em textos lineares.

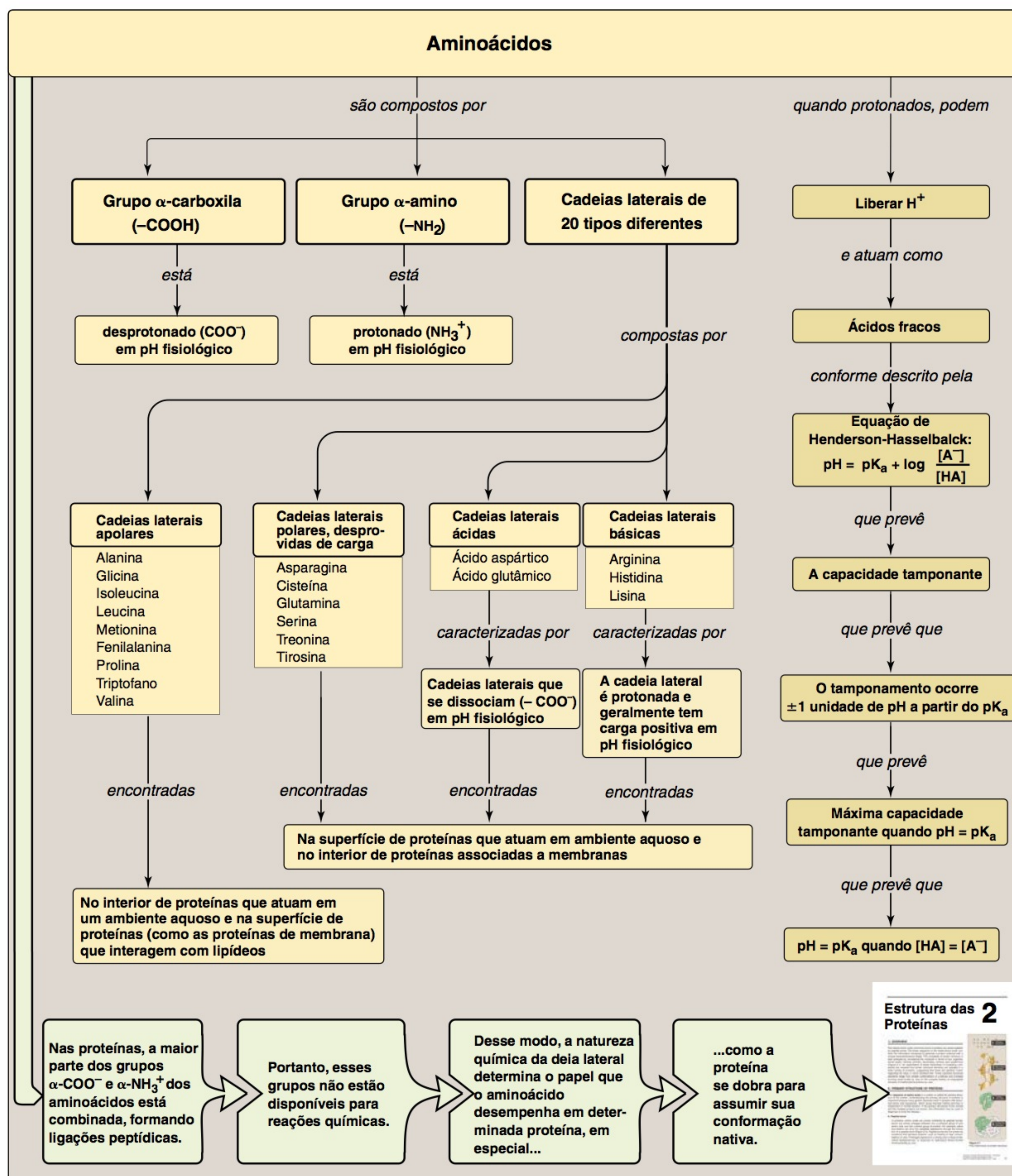


Figura 1.14

Mapa de conceitos-chave para aminoácidos.

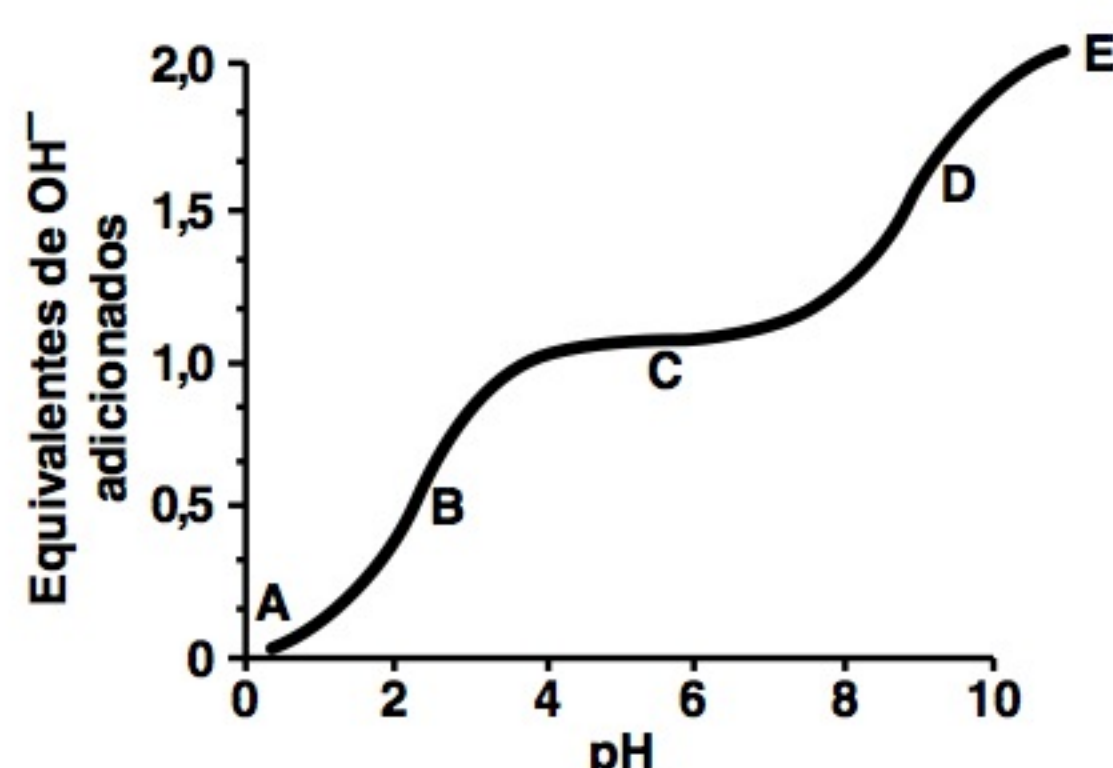
V. RESUMO DO CAPÍTULO

Cada aminoácido apresenta um **grupo α -carboxila** e um **grupo α -amino** primário (exceto a prolina, que possui um **grupo amino secundário**). Em pH fisiológico, o grupo α -carboxila está dissociado, formando o íon carboxilato ($-\text{COO}^-$), carregado negativamente, e o grupo α -amino está protonado ($-\text{NH}_3^+$). Cada aminoácido também apresenta uma **cadeia lateral** (são 20 cadeias laterais diferentes, para os 20 aminoácidos) ligada ao átomo de carbono α . A natureza química dessa cadeia lateral determina a função de um aminoácido em uma proteína e fornece a base para a classificação dos aminoácidos em **apolares, polares desprovidos de carga, ácidos e básicos**. Todos os aminoácidos livres, assim como os aminoácidos que apresentam carga quando ligados às cadeias peptídicas, podem servir como **tampões**. A relação quantitativa entre o pH de uma solução e a concentração de um ácido fraco (HA) e sua base conjugada (A^-) é descrita pela **equação de Henderson-Hasselbalch**. O tamponamento ocorre na faixa do $\text{pK}_a \pm 1$ unidade de pH e é máximo quando $\text{pH} = \text{pK}_a$, situação na qual $[\text{A}^-] = [\text{HA}]$. O carbono α de cada aminoácido (com exceção da glicina) está ligado a quatro diferentes grupos químicos e é, portanto, um átomo de carbono **quiral** ou **opticamente ativo**. Apenas a forma L dos aminoácidos é encontrada nas proteínas sintetizadas pelo corpo humano.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 1.1 As letras de A a E designam certas regiões na curva de titulação para a glicina (mostrada abaixo). Qual das seguintes afirmativas a respeito dessa curva está correta?



Resposta correta = C. C representa o ponto isoelétrico, ou pI , e, como tal, fica a meio caminho entre pK_1 e pK_2 para este ácido monocarboxílico e monoamínico. A glicina está completamente protonada no ponto A. O ponto B representa uma região de máxima capacidade tamponante, assim como o ponto D. O ponto E representa a região em que a glicina está completamente desprotonada.

- A. O ponto A representa a região em que a glicina está desprotonada.
 B. O ponto B representa uma região de mínima capacidade tamponante.
 C. O ponto C representa a região em que a carga líquida da glicina é zero.
 D. O ponto D representa o pK do grupo carboxílico da glicina.
 E. O ponto E representa o pI para a glicina.
- 1.2 Qual das seguintes afirmativas a respeito do peptídeo mostrado abaixo está correta?

Gly-Cys-Glu-Ser-Asp-Arg-Cys

- A. O peptídeo contém glutamina.
 B. O peptídeo contém uma cadeia lateral que forma um grupo amino secundário ao ligar-se ao N do carbono α .
 C. A maioria dos aminoácidos contidos nesse peptídeo apresenta cadeias laterais que estariam carregadas positivamente em pH 7.
 D. O peptídeo é capaz de formar uma ligação dissulfeto interna.
- 1.3 Sabendo-se que o pI para a glicina é 6,1, para qual eletrodo, positivo ou negativo, a glicina migrará quando submetida a um campo elétrico em pH 2? Explique.

Resposta correta = D. Os dois resíduos de cisteína podem, em condições oxidantes, formar uma ligação dissulfeto. A abreviatura de três letras para a glutamina é Gln. A prolina (Pro) contém um grupo amino secundário. Apenas um (Arg), dos sete resíduos de aminoácidos, apresentaria cadeia lateral com carga elétrica positiva em pH 7.

Resposta correta = eletrodo negativo. Quando o pH é menor do que o pI , a carga da glicina é positiva, pois o grupo α -amino está completamente protonado. (Lembre que a glicina apresenta um átomo de H como seu grupo R).

Estrutura das Proteínas

I. VISÃO GERAL

Os 20 aminoácidos comumente encontrados nas proteínas estão unidos entre si por ligações peptídicas. A sequência linear dos aminoácidos ligados contém a informação necessária para formar uma molécula proteica com estrutura tridimensional única. A complexidade da estrutura proteica é melhor analisada considerando-se a molécula em termos de quatro níveis de organização, denominados primário, secundário, terciário e quaternário (Figura 2.1). Um exame desses níveis de complexidade crescente revelou que, em uma ampla variedade de proteínas, certos elementos estruturais são repetidos, sugerindo que existem “regras” gerais relacionadas às maneiras pelas quais as proteínas atingem sua conformação nativa funcional. Esses elementos estruturais repetidos variam desde combinações simples de hélices α e folhas β , formando motivos pequenos, até o dobramento complexo dos domínios polipeptídicos de proteínas multifuncionais (veja a p. 18).

II. ESTRUTURA PRIMÁRIA DAS PROTEÍNAS

A sequência de aminoácidos em uma proteína é denominada estrutura primária da proteína. A compreensão da estrutura primária das proteínas é importante, pois muitas doenças genéticas resultam em proteínas com sequências anormais de aminoácidos, ocasionando organização irregular, com perda ou prejuízo da função normal. Se as estruturas primárias das proteínas normais e mutantes forem conhecidas, essas informações poderão ser utilizadas para diagnosticar ou estudar a doença.

A. A ligação peptídica

Nas proteínas, os aminoácidos são unidos covalentemente por ligações peptídicas, as quais são ligações amida entre o grupo α -carboxila de um aminoácido e o grupo α -amino de outro. Por exemplo, a valina e a alanina podem formar o dipeptídeo valilalanina, por meio da formação de uma ligação peptídica (Figura 2.2). As ligações peptídicas não são rompidas por condições desnaturantes, como aquecimento ou altas concentrações

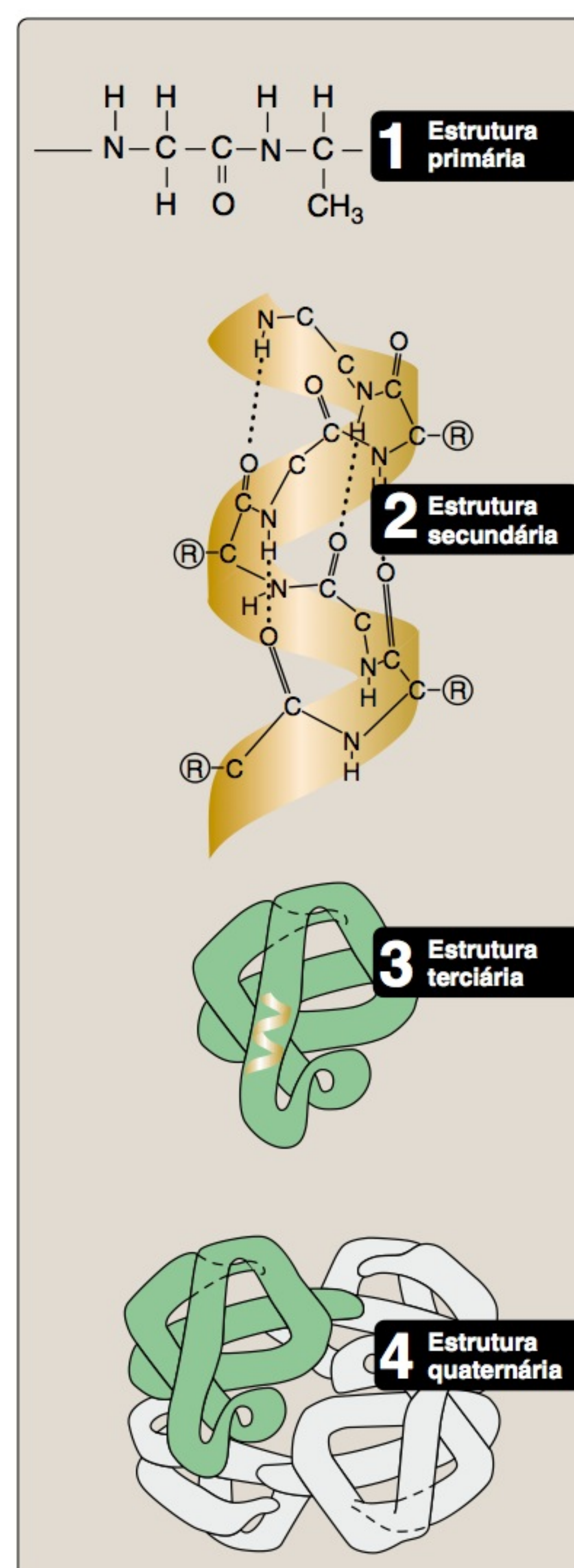
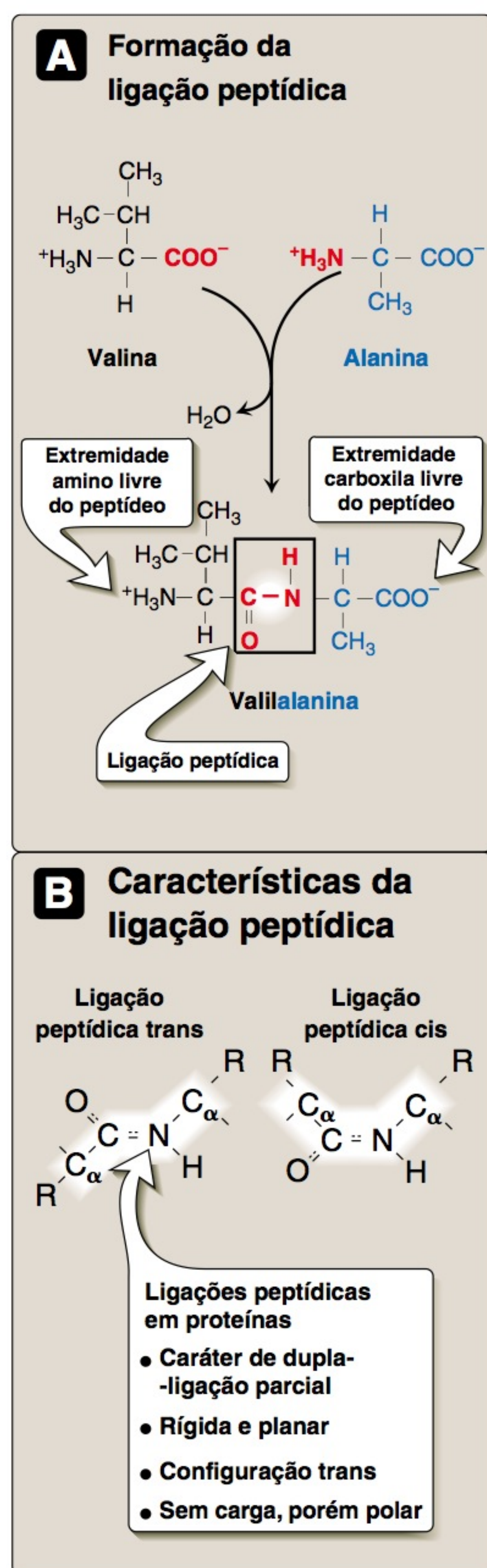


Figura 2.1

Os quatro níveis estruturais das proteínas.

**Figura 2.2**

- A. Formação de uma ligação peptídica, representando a estrutura do dipeptídeo valilalanina.
- B. Características da ligação peptídica.

de ureia (veja a p. 20). Deve haver uma exposição prolongada a um ácido ou a uma base forte em temperaturas elevadas para hidrolisar essas ligações de forma não enzimática.

- 1. Nomeando o peptídeo.** Por convenção, a extremidade amino livre (N-terminal) da cadeia peptídica é escrita à esquerda, e a extremidade carboxila livre (C-terminal), à direita. Dessa forma, todas as sequências de aminoácidos são lidas da extremidade N para a C-terminal do peptídeo. Por exemplo, na Figura 2.2A, a ordem dos aminoácidos é “valina, alanina”. A ligação de muitos aminoácidos por ligações peptídicas resulta em uma cadeia não ramificada, chamada polipeptídeo. Cada aminoácido que compõe um peptídeo é denominado “resíduo”, por ser a porção do aminoácido que permanece após a perda dos átomos de água durante a formação da ligação peptídica. Quando um polipeptídeo é nomeado, os sufixos (-ina, -ano, -ico ou -ato) dos resíduos de aminoácidos são alterados para -il, com exceção do aminoácido C-terminal. Por exemplo, um tripeptídeo composto por uma valina N-terminal, uma glicina e uma leucina C-terminal é denominado valil-glicil-leucina.
- 2. Características da ligação peptídica.** A ligação peptídica tem um caráter de dupla-ligação parcial, ou seja, é mais curta do que uma ligação simples, além de rígida e planar (Figura 2.2B). Isso impede a rotação livre da ligação entre o carbono da carbonila e o nitrogênio da ligação peptídica. Entretanto, as ligações entre os carbonos α e os grupos α -amino ou α -carboxila podem rotar livremente (embora sejam limitadas pelo tamanho e pelo caráter dos grupos R). Isso permite que a cadeia polipeptídica assuma uma variedade de configurações possíveis. A ligação peptídica geralmente é uma ligação trans (em vez de cis; veja a Figura 2.2B), em grande parte devido à interferência estérica dos grupos R quando em posição cis.
- 3. Polaridade da ligação peptídica.** Assim como todas as ligações amida, os grupos —C=O e —NH da ligação peptídica não possuem carga e nem aceitam ou fornecem prótons na faixa de pH de 2 a 12. Assim, os grupos carregados presentes nos polipeptídeos consistem unicamente no grupo N-terminal (α -amino), no grupo C-terminal (α -carboxila) e em quaisquer grupos ionizados presentes nas cadeias laterais dos aminoácidos constituintes. Os grupos —C=O e —NH da ligação peptídica são polares e estão envolvidos em ligações de hidrogênio, por exemplo, nas hélices α e folhas β descritas nas páginas 16 e 17.

B. Determinação da composição de aminoácidos de um polipeptídeo

O primeiro passo para determinar a estrutura primária de um polipeptídeo é identificar e quantificar seus aminoácidos constituintes. Uma amostra purificada do polipeptídeo a ser analisado é primeiramente submetida à hidrólise por um ácido forte, a 110 °C durante 24 horas. Esse tratamento cliva as ligações peptídicas e libera os aminoácidos individuais, os quais podem ser separados por cromatografia de troca de cátions. Nessa técnica, uma mistura de aminoácidos é aplicada a uma coluna que contém uma resina na qual grupos carregados negativamente estão firmemente aderidos. (Nota: se o grupo aderido for carregado positivamente, a coluna torna-se trocadora de ânions.) Os aminoácidos ligam-se à coluna com diferentes afinidades, dependendo das suas cargas, hidrofobicidade e outras características. Cada aminoácido é sequencialmente liberado da coluna cromatográfica por eluição com soluções de crescente força iônica e pH (Figura 2.3). Os aminoácidos separados presentes no eluído da coluna são quantificados por meio do aquecimento com ninhidrina,

um reagente que forma um composto de cor púrpura com a maioria dos aminoácidos, com a amônia e com as aminas. A quantidade de cada aminoácido é determinada por espectrofotometria, medindo-se a quantidade de luz absorvida pelo derivado da ninhidrina. A análise aqui descrita é efetuada por meio de um analisador de aminoácidos – um aparelho automático, cujos componentes são ilustrados na Figura 2.3.

C. Sequenciamento do peptídeo a partir de sua extremidade N-terminal

O sequenciamento é um processo gradual de identificação de aminoácidos específicos em cada posição da cadeia polipeptídica, iniciando na extremidade N-terminal. O fenilisotiocianato, conhecido como reagente de Edman, é usado para marcar, sob condições levemente alcalinas, o resíduo aminoterminal (Figura 2.4). O derivado de feniltioindantoína (PTH) resultante provoca uma instabilidade na ligação peptídica N-terminal, que pode ser seletivamente hidrolisada sem clivar as demais ligações peptídicas. A identidade do derivado de aminoácido obtido pode então ser determinada. O reagente de Edman pode ser aplicado repetidamente ao peptídeo mais curto, resultante de cada ciclo prévio.

D. Clivagem do polipeptídeo em fragmentos menores

Muitos polipeptídeos têm uma estrutura primária composta de mais de 100 aminoácidos. Essas moléculas não podem ser sequenciadas diretamente de uma extremidade a outra por um sequenciador. Entretanto, essas moléculas maiores podem ser clivadas em sítios específicos, e os fragmentos resultantes podem ser sequenciados. Utilizando-se mais de um agente de clivagem (enzimas e/ou produtos químicos) em distintas amostras do polipeptídeo purificado, fragmentos justapostos podem ser gerados para permitir o ordenamento correto dos fragmentos sequenciados, fornecendo, assim, a sequência completa de aminoácidos do polipeptídeo maior (Figura 2.5). As enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas são denominadas *peptidases* (*proteases*). (Nota: as *exopeptidases* clivam as extremidades terminais das proteínas e são divididas em *aminopeptidases* e *carboxipeptidases*. As *carboxipeptidases* são usadas para determinar o aminoácido C-terminal. As *endopeptidases* clivam ligações internas das proteínas.)

E. Determinação da estrutura primária de uma proteína por sequenciamento do DNA

A sequência de nucleotídeos em uma região de codificação de proteínas no DNA determina a sequência de aminoácidos de um polipeptídeo. Assim, se a sequência de nucleotídeos pode ser determinada, é pos-

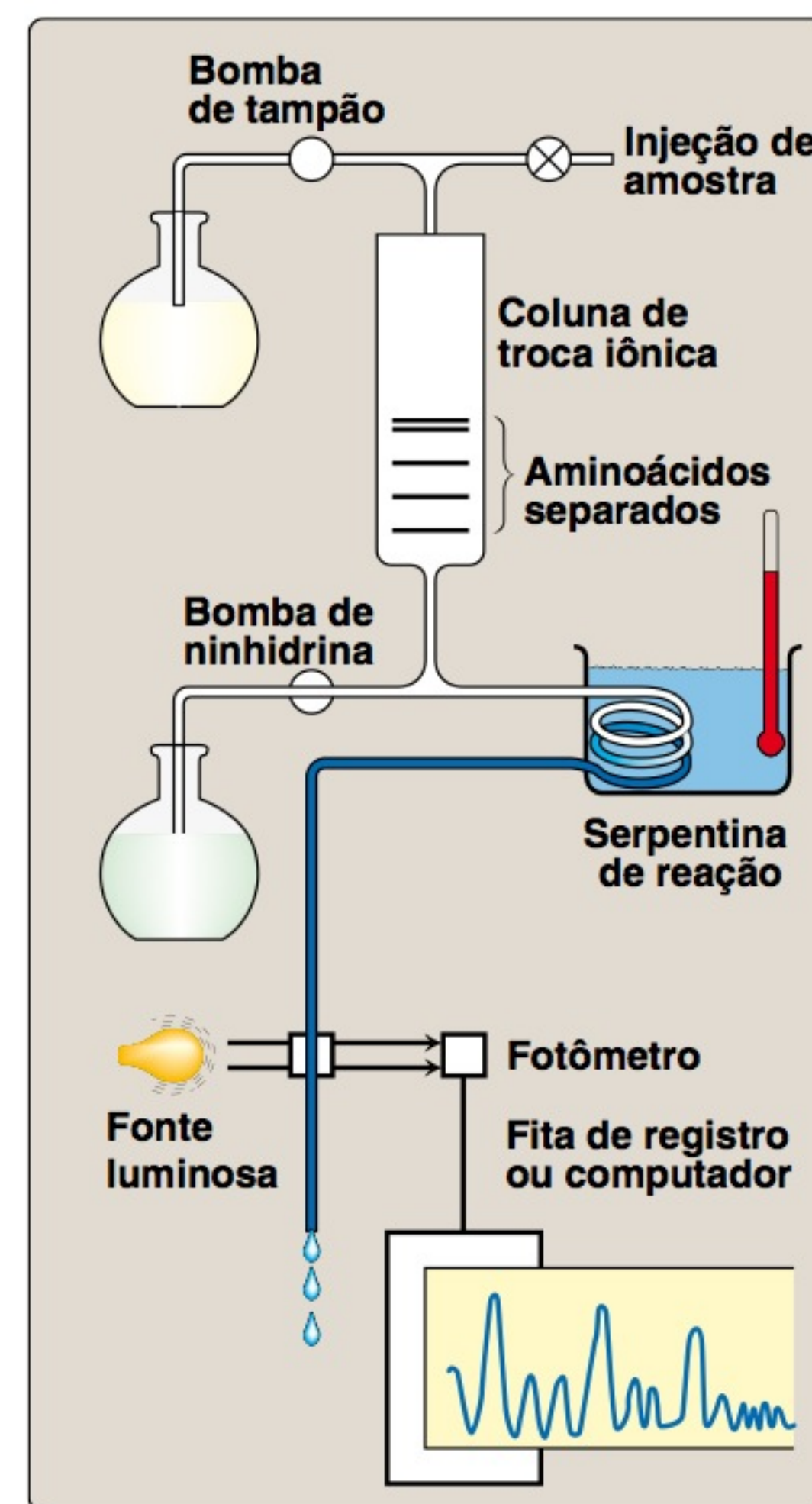


Figura 2.3

Determinação da composição de aminoácidos de um polipeptídeo por meio de um analisador de aminoácidos.

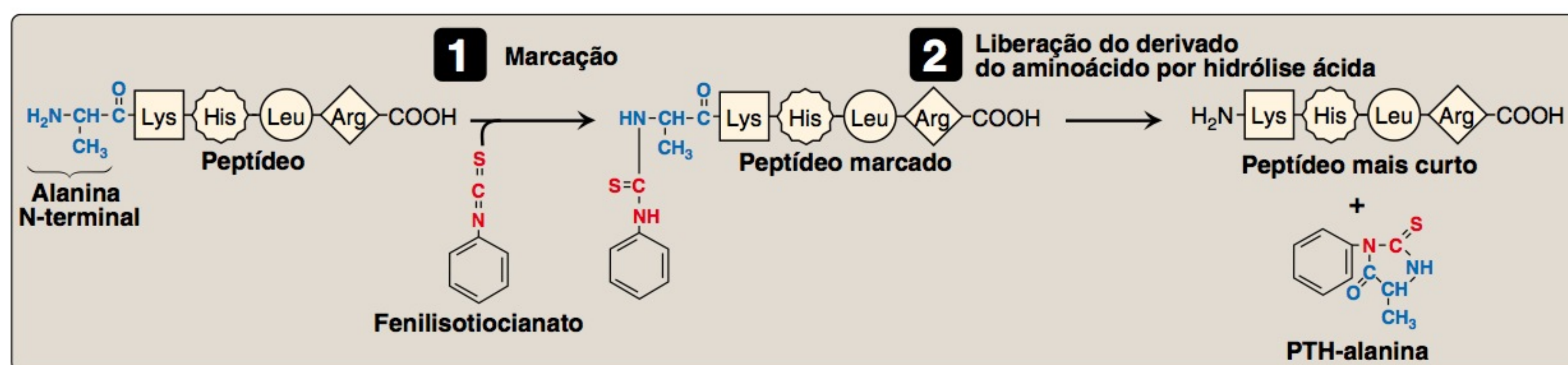


Figura 2.4

Determinação do resíduo aminoterminal de um polipeptídeo por degradação de Edman.

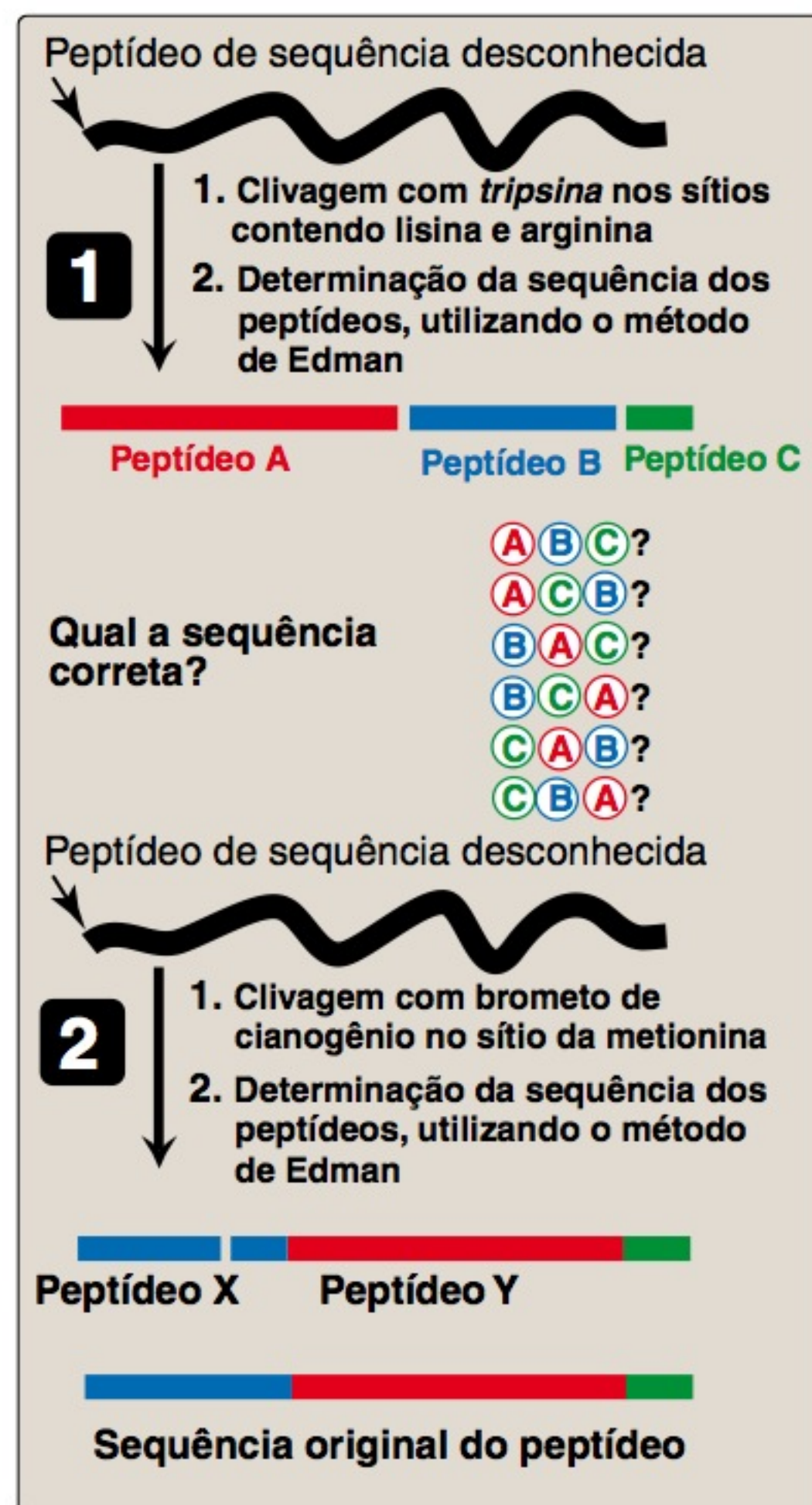


Figura 2.5

Peptídeos justapostos produzidos pela ação da *tripsina* e do brometo de cianogênio.

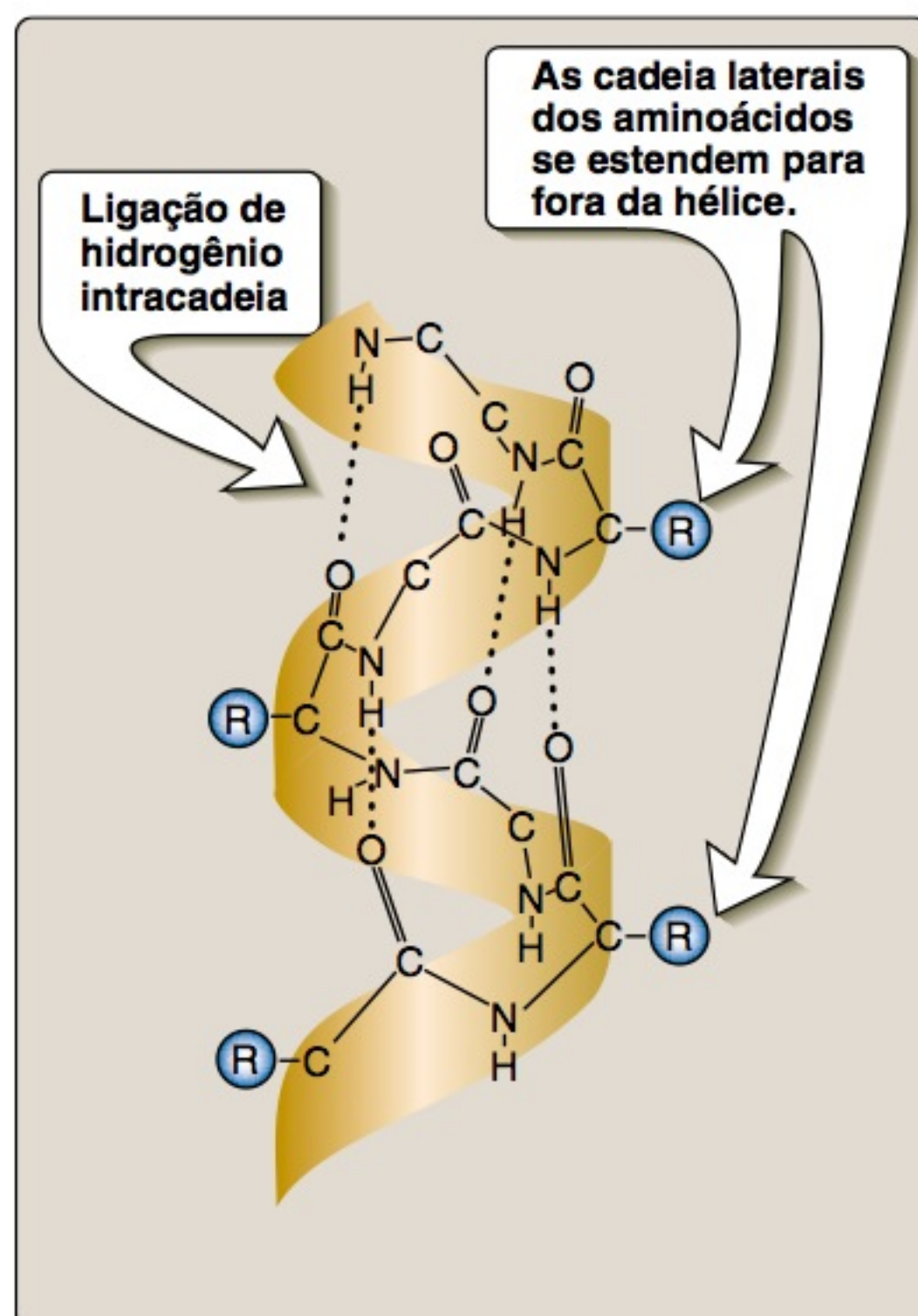


Figura 2.6

Hélice α mostrando o esqueleto do peptídeo.

sível, por meio do código genético (veja a p. 431), traduzir a sequência de nucleotídeos na sequência correspondente de aminoácidos daquele polipeptídeo. Esse processo indireto, embora usado rotineiramente para obter as sequências de aminoácidos das proteínas, apresenta as limitações de não ser capaz de prever as posições das ligações dissulfeto na cadeia dobrada e de não identificar qualquer aminoácido que seja modificado após sua incorporação ao polipeptídeo (modificação pós-traducional, veja a p. 443). Assim, o sequenciamento direto de proteínas é uma ferramenta extremamente importante para determinar o verdadeiro caráter da sequência primária de muitos polipeptídeos.

III. ESTRUTURA SECUNDÁRIA DAS PROTEÍNAS

O esqueleto polipeptídico não assume uma estrutura tridimensional aleatória, mas, em vez disso, geralmente forma arranjos regulares de aminoácidos que estão localizados próximos uns aos outros na sequência linear. Esses arranjos são denominados estrutura secundária do polipeptídeo. A hélice α , a folha β e a curvatura β (volta β) são exemplos de estruturas secundárias frequentemente encontradas em proteínas. (Nota: a cadeia α da hélice do colágeno, outro exemplo de estrutura secundária, é discutida na p. 45.)

A. Hélice α

Existem várias hélices polipeptídicas diferentes na natureza, mas a hélice α é a mais comum. Ela apresenta estrutura helicoidal, que consiste em um esqueleto polipeptídico central espiralado e bem compacto, com as cadeias laterais dos aminoácidos que a compõem estendendo-se para fora do eixo central, de modo a evitar a interferência estérica entre si (Figura 2.6). Um grupo variado de proteínas contém hélices α . As queratinas, por exemplo, são uma família de proteínas fibrosas bastante relacionadas, cuja estrutura é quase totalmente constituída de hélices α . Elas constituem os principais componentes de tecidos como o cabelo e a pele, e sua rigidez é determinada pelo número de ligações dissulfeto entre as cadeias polipeptídicas constituintes. Em contraste à queratina, a mioglobina, cuja estrutura é também formada em grande parte por hélices α , é uma molécula globular flexível (veja a p. 26).

- 1. Ligações de hidrogênio.** Uma hélice α é estabilizada por uma ampla formação de ligações de hidrogênio entre os átomos de oxigênio das carbonilas e os hidrogênios das amidas das ligações peptídicas que compõem o esqueleto polipeptídico (Figura 2.6). As ligações de hidrogênio estendem-se de forma paralela à espiral, do oxigênio da carbonila ao grupo $-NH$ de uma ligação peptídica quatro resíduos à frente no polipeptídeo. Isso assegura que todas, exceto a primeira e a última ligações peptídicas componentes, estejam unidas entre si por ligações de hidrogênio intracadeia. Essas ligações são individualmente fracas, mas coletivamente servem para estabilizar a hélice.
- 2. Aminoácidos por passo.** Cada volta completa de uma hélice α contém 3,6 resíduos de aminoácidos. Assim, os resíduos de aminoácidos separados por três ou quatro resíduos na sequência primária estão espacialmente próximos, quando dobrados em hélice α .
- 3. Aminoácidos que quebram a hélice α .** A prolina quebra a hélice α , pois o seu grupo amino secundário não é compatível geometricamente com a espiral voltada para a direita da hélice α . Assim, ela insere uma dobra na cadeia, que interrompe a suave estrutura helicoidal. Diversos aminoácidos carregados (p. ex., glutamato, aspartato, histidina, lisina ou arginina) também quebram a hélice pela

formação de ligações iônicas ou por repulsão eletrostática entre um e outro. Finalmente, os aminoácidos com cadeias laterais volumosas, como o triptofano, ou aminoácidos como a valina ou a isoleucina, que se ramificam no carbono β (o primeiro carbono no grupo R, logo após o carbono α), podem interferir com a formação de uma hélice α se estiverem em grande número.

B. Folha β

A folha β é outra forma de estrutura secundária, na qual todos os componentes da ligação peptídica estão envolvidos com ligações de hidrogênio (Figura 2.7A). As superfícies das folhas β apresentam uma aparência “pregueada” e, portanto, essas estruturas são frequentemente denominadas “folhas β pregueadas”. Quando são feitas ilustrações da estrutura proteica, as fitas β são, muitas vezes, visualizadas como setas largas (Figura 2.7B).

- 1. Comparação entre a folha β e a hélice α .** Ao contrário da hélice α , as folhas β são compostas de duas ou mais cadeias peptídicas (fitas β) ou segmentos de cadeias polipeptídicas, que se apresentam quase totalmente estendidos. Observe, também, que nas folhas β as ligações de hidrogênio são perpendiculares ao esqueleto polipeptídico (Figura 2.7A).
- 2. Folhas paralelas e antiparalelas.** Uma folha β pode ser formada por duas ou mais cadeias polipeptídicas ou por segmentos de cadeias polipeptídicas, dispostos de forma antiparalela um ao outro (com as extremidades N-terminal e C-terminal das folhas β alternando-se, conforme ilustrado na Figura 2.7B) ou de forma paralela (com todos os N-terminais das folhas β juntos, conforme ilustrado na Figura 2.7C). Quando as ligações de hidrogênio são formadas entre os esqueletos polipeptídicos de cadeias polipeptídicas separadas, elas são denominadas ligações intercadeias. Uma folha β também pode ser formada por uma única cadeia polipeptídica, dobrando-se sobre si mesma (Figura 2.7C). Nesse caso, as ligações de hidrogênio são ligações intracadeia. Em proteínas globulares, as folhas β sempre apresentam uma curvatura para a direita, quando observadas ao longo do esqueleto polipeptídico. (Nota: as folhas β dobradas frequentemente formam a parte central de proteínas globulares.)



As estruturas em hélice α e em folha β proporcionam o máximo de ligações de hidrogênio aos componentes da ligação peptídica no interior dos polipeptídeos.

C. Curvaturas β (voltas reversas, voltas β)

As curvaturas β revertem a direção de uma cadeia polipeptídica, auxiliando a formação de uma estrutura compacta e globular. Elas normalmente são encontradas na superfície das moléculas proteicas e com frequência contêm resíduos carregados. (Nota: as curvaturas β receberam esse nome porque, muitas vezes, conectam faixas sucessivas de folhas β antiparalelas.) As curvaturas β geralmente são compostas por quatro aminoácidos, em que um dos quais pode ser a prolina – o iminoácido que causa a “torção” na cadeia polipeptídica. A glicina, o aminoácido com menor grupo R, também é encontrada com frequência nas curvaturas β . As curvaturas β são estabilizadas pela formação de ligações de hidrogênio e ligações iônicas.

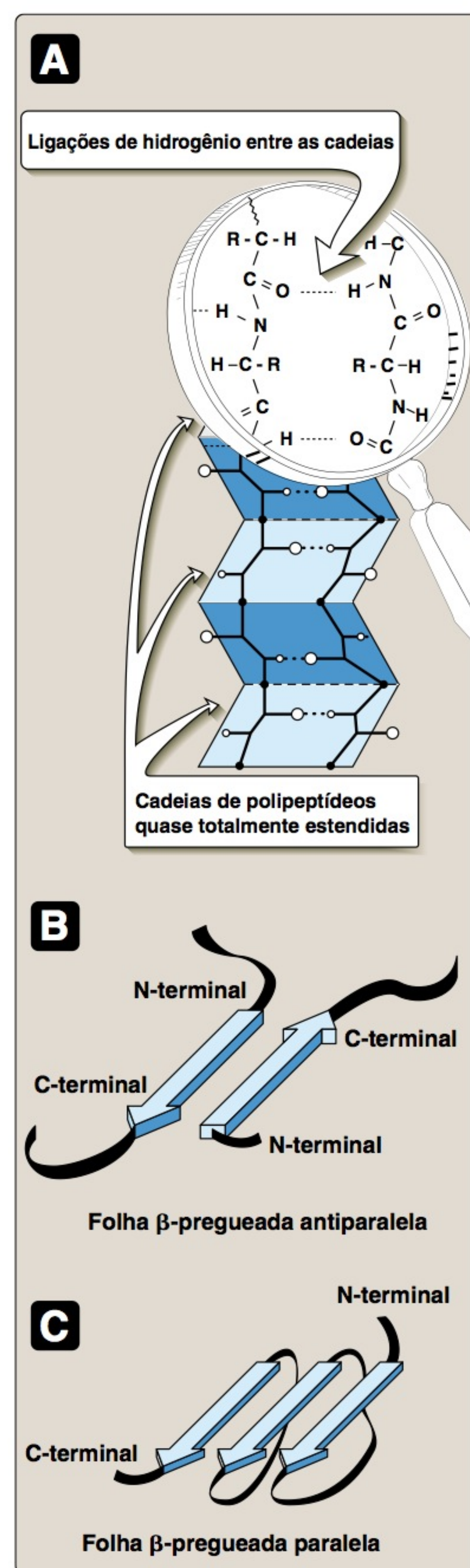
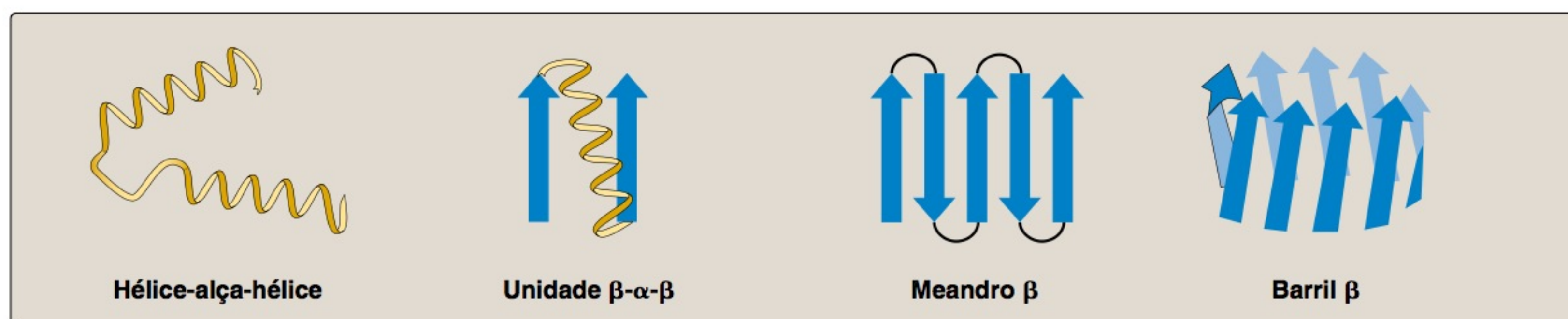


Figura 2.7

A. Estrutura de uma folha β . B. Uma folha β antiparalela, com fitas β representadas por setas largas. C. Uma folha β paralela, formada por uma única cadeia polipeptídica, dobrando-se sobre si mesma.

**Figura 2.8**

Alguns motivos estruturais comuns, combinando hélices α e/ou folhas β . Os nomes descrevem seus aspectos esquemáticos.

D. Estrutura secundária não repetitiva

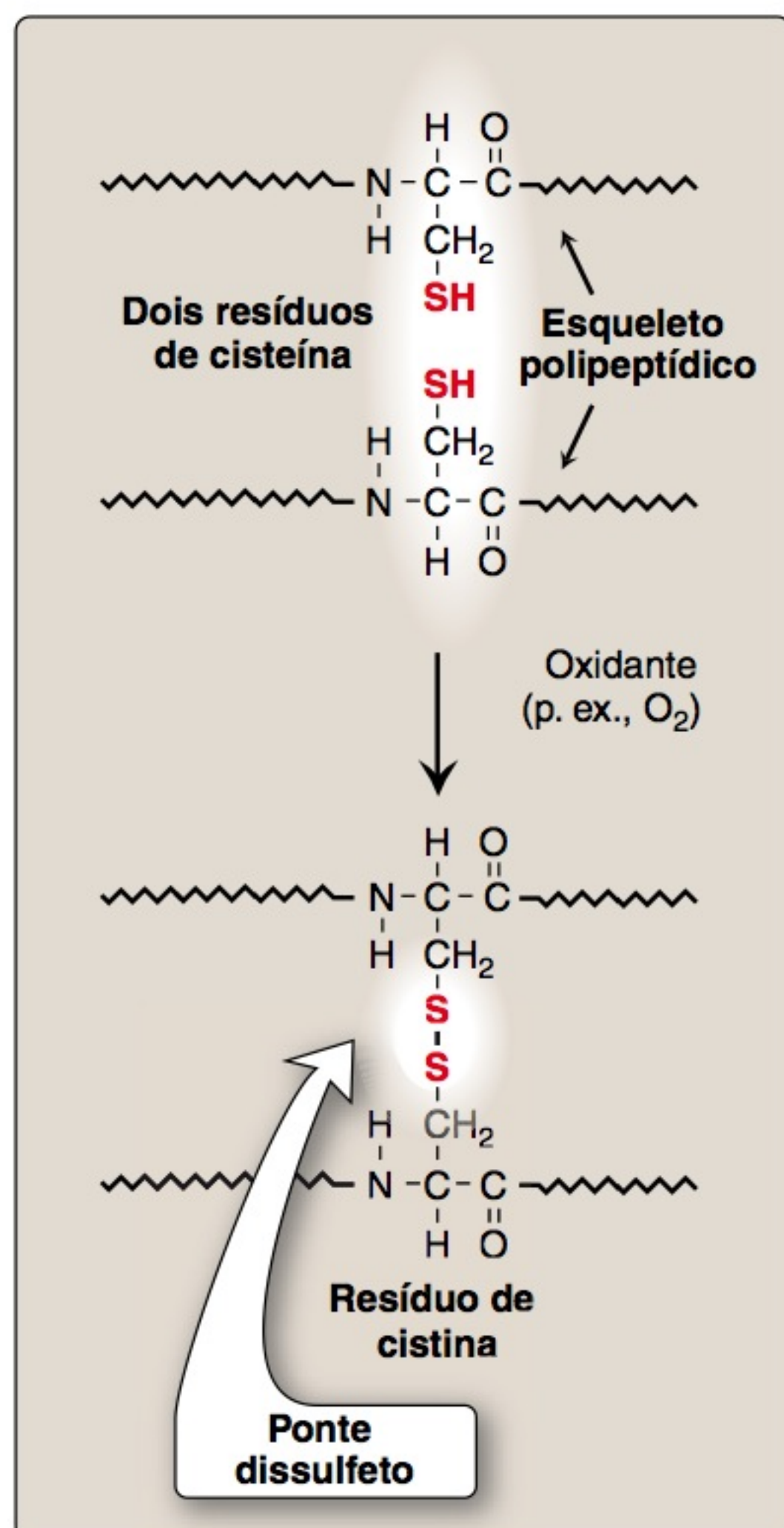
Aproximadamente a metade de uma proteína globular média está organizada em estruturas repetitivas como a hélice α e/ou as folhas β . O restante da cadeia polipeptídica é descrito como tendo uma estrutura em laço ou em espiral. Essas estruturas secundárias não repetitivas não são “aleatórias”, mas simplesmente possuem uma estrutura menos regular do que aquelas descritas anteriormente. (Nota: o termo “espiral randômica” refere-se à estrutura alterada, obtida quando as proteínas são desnaturadas [veja a p. 20].)

E. Estruturas supersecundárias (motivos)

As proteínas globulares são construídas pela combinação de elementos estruturais secundários (hélices α , folhas β e sequências não repetitivas). Esses formam principalmente a região central, isto é, o interior da molécula. Eles são conectados por regiões em alça (p. ex., curvaturas β) na superfície da proteína. As estruturas supersecundárias são normalmente produzidas pelo agrupamento das cadeias laterais de elementos estruturais secundários adjacentes, próximos um ao outro. Assim, por exemplo, as hélices α e as folhas β , adjacentes na sequência de aminoácidos, também são normalmente (mas não sempre) adjacentes na proteína final, dobrada. Alguns dos motivos mais comuns estão ilustrados na Figura 2.8.



As proteínas que se ligam ao DNA contêm um limitado número de motivos. O motivo hélice-alça-hélice é um exemplo encontrado em diversas proteínas que funcionam como fatores de transcrição (veja a p. 455).

**Figura 2.9**

Formação de uma ponte dissulfeto pela oxidação de dois resíduos de cisteína, produzindo um resíduo de cistina.

IV. ESTRUTURA TERCIÁRIA DAS PROTEÍNAS GLOBULARES

A estrutura primária de uma cadeia polipeptídica determina sua estrutura terciária. A palavra “terciária” refere-se tanto ao dobramento dos domínios (as unidades básicas de estrutura e função, veja a discussão a seguir) quanto ao arranjo final dos domínios no polipeptídeo. A estrutura das proteínas globulares em solução aquosa é compacta, com alta densidade (intenso empacotamento) de átomos no centro da molécula. As cadeias laterais hidrofóbicas são posicionadas no interior, enquanto os grupos hidrofílicos geralmente são encontrados na superfície da molécula.

A. Domínios

Os domínios são as unidades funcionais fundamentais com estrutura tridimensional em um polipeptídeo. As cadeias polipeptídicas maiores do que 200 aminoácidos de comprimento geralmente apresentam dois ou mais domínios. O centro de um domínio é formado a partir de combinações de elementos estruturais supersecundários (motivos). O dobramento da cadeia peptídica dentro de um domínio em geral ocorre independentemente do dobramento em outros domínios. Assim, cada domínio apresenta as características de uma proteína globular pequena e compacta, estruturalmente independente de outros domínios na cadeia polipeptídica.

B. Interações que estabilizam a estrutura terciária

A estrutura tridimensional única de cada polipeptídeo é determinada por sua sequência de aminoácidos. As interações entre as cadeias laterais dos aminoácidos direcionam o dobramento do polipeptídeo para formar uma estrutura compacta. Quatro tipos de interações cooperam para estabilizar as estruturas terciárias das proteínas globulares.

1. **Pontes dissulfeto.** Uma ponte dissulfeto é uma ligação covalente formada pelos grupos sulfidríla ($-SH$) de dois resíduos de cisteína para produzir um resíduo de cisteína (Figura 2.9). As duas cisteínas podem estar separadas uma da outra por muitos aminoácidos na sequência primária de um polipeptídeo, ou podem até mesmo estar localizadas em duas cadeias polipeptídicas diferentes; o dobramento da(s) cadeia(s) polipeptídica(s) aproxima os resíduos de cisteína e permite a ligação covalente de suas cadeias laterais. Uma ponte dissulfeto contribui para a estabilidade da conformação tridimensional da molécula proteica e evita que elas se tornem desnaturadas no meio extracelular. Por exemplo, muitas ligações dissulfeto são encontradas em proteínas, como as imunoglobulinas secretadas pelas células.
2. **Interações hidrofóbicas.** Os aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas tendem a ficar localizados no interior da molécula polipeptídica, onde se associam com outros aminoácidos hidrofóbicos (Figura 2.10). Em contraste, aminoácidos com cadeias laterais polares ou com carga tendem a ficar na superfície da molécula, em contato com o solvente polar. (Nota: lembre que proteínas localizadas em ambientes apolares [lipídicos], como as membranas celulares, exibem um arranjo inverso [veja a Figura 1.4, p. 4].) Em qualquer dos casos, ocorre a segregação energeticamente mais favorável dos grupos R.
3. **Ligações de hidrogênio.** Cadeias laterais de aminoácidos contendo hidrogênio ligado a oxigênio ou nitrogênio, como os grupos alcoólicos da serina e da treonina, podem formar ligações de hidrogênio com átomos ricos em elétrons, como o oxigênio dos grupos carboxila ou o grupo carbonila das ligações peptídicas (Figura 2.11; veja também a Figura 1.6, p. 4). A formação de ligações de hidrogênio entre os grupos polares na superfície de uma proteína e o solvente aquoso aumentam a solubilidade da proteína.
4. **Interações iônicas.** Grupos carregados negativamente, como o grupo carboxila ($-COO^-$) na cadeia lateral do aspartato ou do glutamato, podem interagir com grupos carregados positivamente, como o grupo amino ($-NH_3^+$), na cadeia lateral da lisina (Figura 2.11).

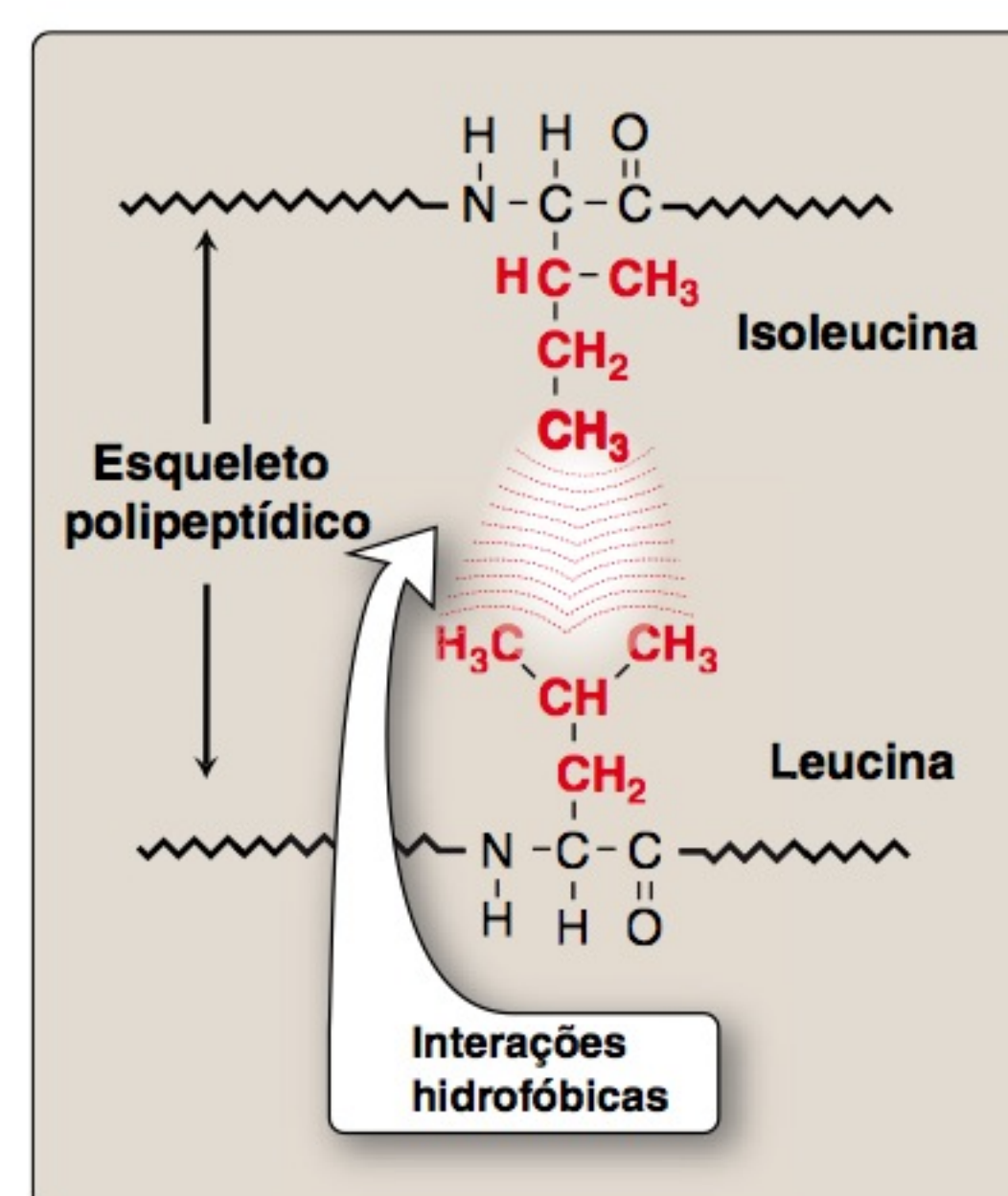


Figura 2.10

Interações hidrofóbicas entre aminoácidos com cadeias laterais apolares.

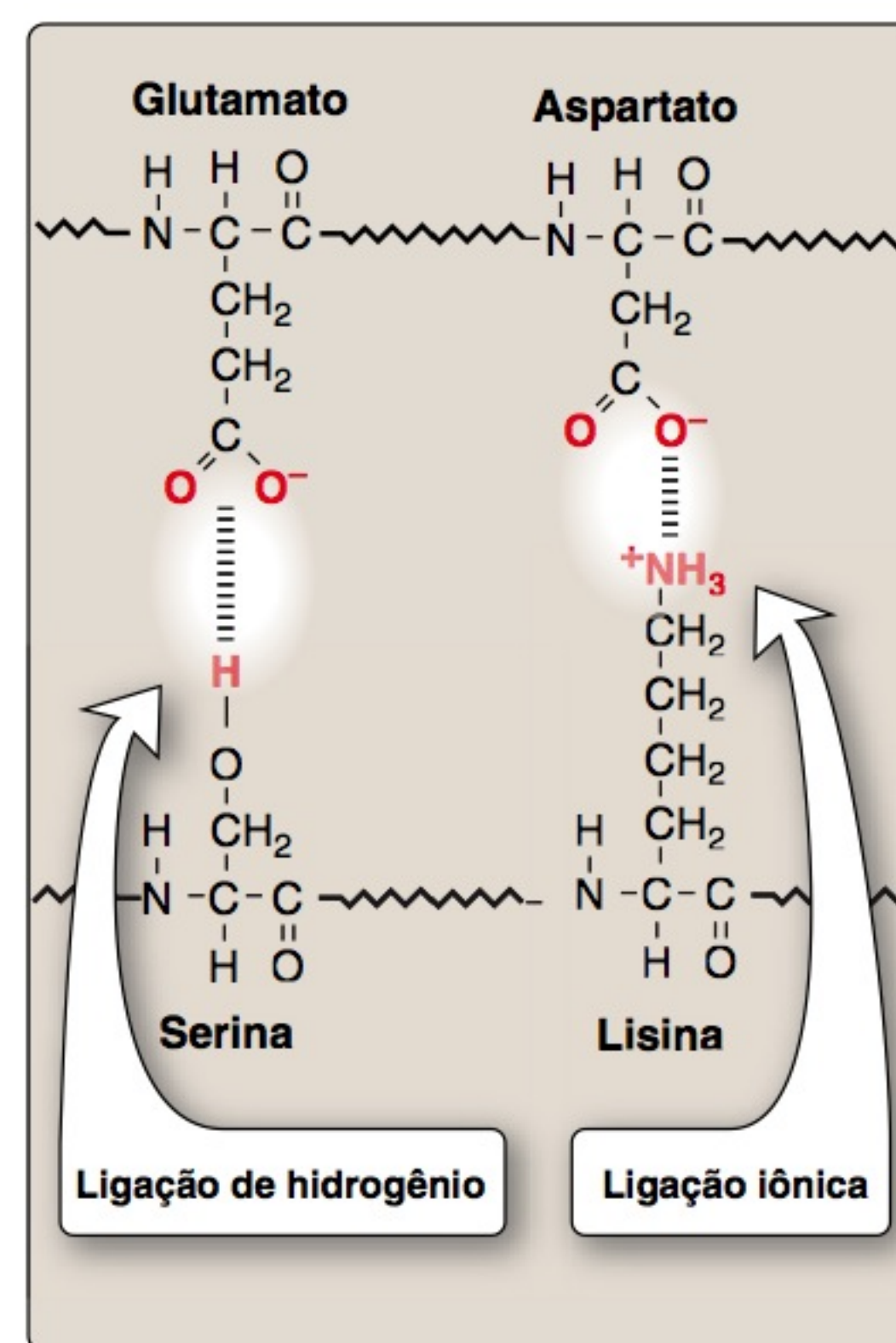
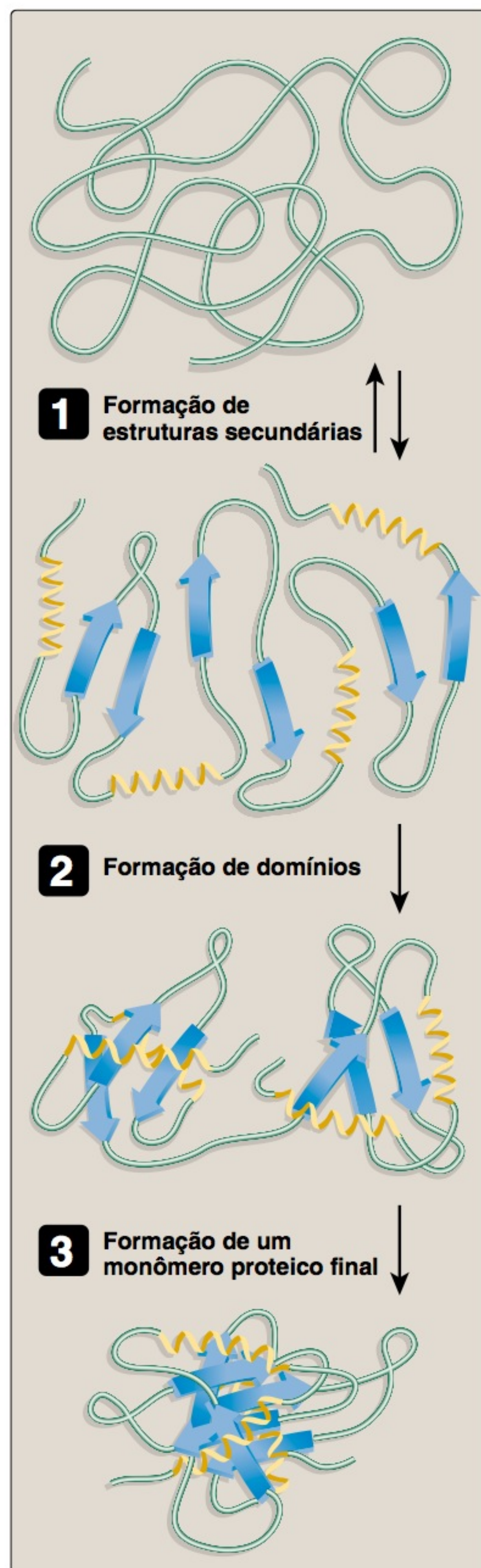


Figura 2.11

Interações de cadeias laterais de aminoácidos por meio de ligações de hidrogênio e ligações iônicas (pontes salinas).

**Figura 2.12**

Etapas no dobramento proteico.

C. Dobramento proteico

As interações entre as cadeias laterais dos aminoácidos determinam como uma cadeia polipeptídica longa se dobra para formar a intrincada conformação tridimensional de proteínas funcionais. O dobramento proteico, que ocorre dentro da célula de segundos a minutos, emprega um atalho pelo labirinto de todas as possibilidades de dobramento. Com o dobramento peptídico, as cadeias laterais dos aminoácidos são atraídas ou repelidas de acordo com suas propriedades químicas. Por exemplo, cadeias laterais carregadas positiva e negativamente atraem-se umas às outras. Por sua vez, cadeias laterais com cargas semelhantes repelem-se umas às outras. Além disso, as interações envolvendo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e pontes dissulfeto podem influenciar o processo de dobramento. Esse processo de tentativa e erro experimenta muitas (mas não todas) possibilidades de configuração em busca de um estado no qual as atrações superem as repulsões. Isso resulta em uma proteína dobrada corretamente, com baixo estado energético (Figura 2.12).

D. Desnaturação de proteínas

A desnaturação proteica resulta no desdobramento e na desorganização das estruturas secundária e terciária, sem que ocorra hidrólise das ligações peptídicas. Os agentes desnaturantes incluem calor, solventes orgânicos, agitação mecânica, ácidos ou bases fortes, detergentes e íons de metais pesados, como chumbo e mercúrio. A desnaturação pode, sob condições ideais, ser reversível; nesse caso, a proteína dobra-se novamente em sua estrutura original (nativa) quando o agente desnaturante for removido. Entretanto, as proteínas, em sua maioria, uma vez desnaturadas, ficam permanentemente desordenadas. As proteínas desnaturadas são, com frequência, insolúveis; portanto, precipitam quando em solução.

E. Papel das chaperonas no dobramento proteico

Geralmente se aceita que a informação necessária para o correto dobramento da proteína está contida na estrutura primária do polipeptídeo. Considerando essa premissa, é difícil explicar por que as proteínas, em sua maioria, quando desnaturadas, não retomam sua conformação nativa sob condições ambientais favoráveis. Uma resposta para esse problema é que a proteína começa a se dobrar em estágios durante sua síntese, em vez de esperar que a síntese de toda a cadeia esteja completa. Isso limita a competição entre configurações de dobramento possíveis em bandas maiores do peptídeo nascente. Além disso, um grupo especializado de proteínas denominadas “chaperonas”, é requerido para o dobramento adequado de muitas espécies de proteínas. As chaperonas – também denominadas proteínas de “choque térmico” – interagem com o polipeptídeo em vários estágios durante o processo de dobramento. Algumas delas são importantes para manter a proteína desdobrada até que sua síntese esteja terminada, ou agem como catalisadoras, aumentando a velocidade dos estágios finais no processo de dobramento. Outras protegem as proteínas durante o dobramento, para que as regiões expostas, mais vulneráveis, não formem interações infrutíferas.

V. ESTRUTURA QUATERNÁRIA DAS PROTEÍNAS

Muitas proteínas consistem em uma única cadeia polipeptídica, sendo definidas como proteínas monoméricas. Outras, entretanto, consistem em duas ou mais cadeias polipeptídicas, que podem ser estruturalmente idênticas ou totalmente diferentes. O arranjo dessas subunidades polipeptídicas é denominado estrutura quaternária da proteína. As subunidades são unidas por inte-

rações não covalentes (p. ex., ligações de hidrogênio, ligações iônicas e interações hidrofóbicas). As subunidades podem funcionar independentemente umas das outras ou podem trabalhar cooperativamente, como no caso da hemoglobina, em que a ligação do oxigênio a uma subunidade do tetrâmero aumenta a afinidade das outras subunidades para o oxigênio (veja a p. 29).

As isoformas são proteínas que desempenham a mesma função, porém com estrutura primária diferente. Podem ser originadas de genes diferentes ou de processamento tecido-específico a partir de um único gene. Se a proteína atua como enzima, as isoformas são denominadas isoenzimas (ou isozimas; veja a p. 65).

VI. DOBRAMENTO INADEQUADO DE PROTEÍNAS

O dobramento proteico é um processo complexo de tentativa e erro, que algumas vezes pode resultar em moléculas dobradas de forma imprópria. Essas proteínas dobradas de forma incorreta são normalmente marcadas e degradadas dentro da célula (veja a p. 444). Entretanto, esse sistema de controle de qualidade não é perfeito, e agregados intra ou extracelulares de proteínas inadequadamente dobradas podem se acumular, especialmente durante o envelhecimento. Depósitos dessas proteínas com dobramentos inadequados estão associados a algumas doenças.

A. Amiloidoses

O dobramento inadequado de proteínas pode ocorrer espontaneamente ou ser causado por uma mutação em um determinado gene, o que produz uma proteína alterada. Além disso, algumas proteínas aparentemente normais, após uma clivagem proteolítica anormal, podem assumir um estado conformacional específico, que leva à formação de longos feixes de proteínas fibrilares, constituídos de folhas β pregueadas. Essas proteínas agregam-se espontaneamente, e o acúmulo desses agregados insolúveis, denominados amiloides, tem sido implicado em muitas doenças degenerativas – especialmente na doença de Alzheimer, uma doença neurodegenerativa relacionada à idade. O componente predominante da placa amiloide que se acumula na doença de Alzheimer é um peptídeo formado por 40 a 42 resíduos de aminoácidos, denominado amiloide β ($A\beta$). Os métodos de cristalografia de raios X e espectroscopia de infravermelho demonstram uma conformação característica de folha β pregueada na forma de fibrilas não ramificadas. Esse peptídeo, quando agregado na configuração de folha β pregueada, é neurotóxico e constitui o principal evento patogênico que leva ao prejuízo cognitivo característico da doença. O peptídeo amiloide $A\beta$, depositado no cérebro em decorrência da doença de Alzheimer, é derivado por clivagem proteolítica de uma proteína maior, a proteína precursora amiloide – uma proteína com um único domínio transmembrana, expressa na superfície de células neurais e em outros tecidos (Figura 2.13). Os agregados contendo o peptídeo $A\beta$ formam a placa amiloide, encontrada no parênquima cerebral e ao redor dos vasos sanguíneos. A maioria dos casos de doença de Alzheimer não é de origem genética, embora pelo menos cinco a dez por cento dos casos tenham origem familiar. Um segundo fator biológico envolvido no desenvolvimento da doença de Alzheimer é o acúmulo de emaranhados neurofibrilares no interior de neurônios. Um componente-chave desse emaranhado de fibras é uma forma anormal da proteína tau (τ), que, na forma saudável, auxilia na organização da estrutura microtubular. A proteína τ defeituosa, entretanto, parece bloquear as ações da sua forma equivalente normal.

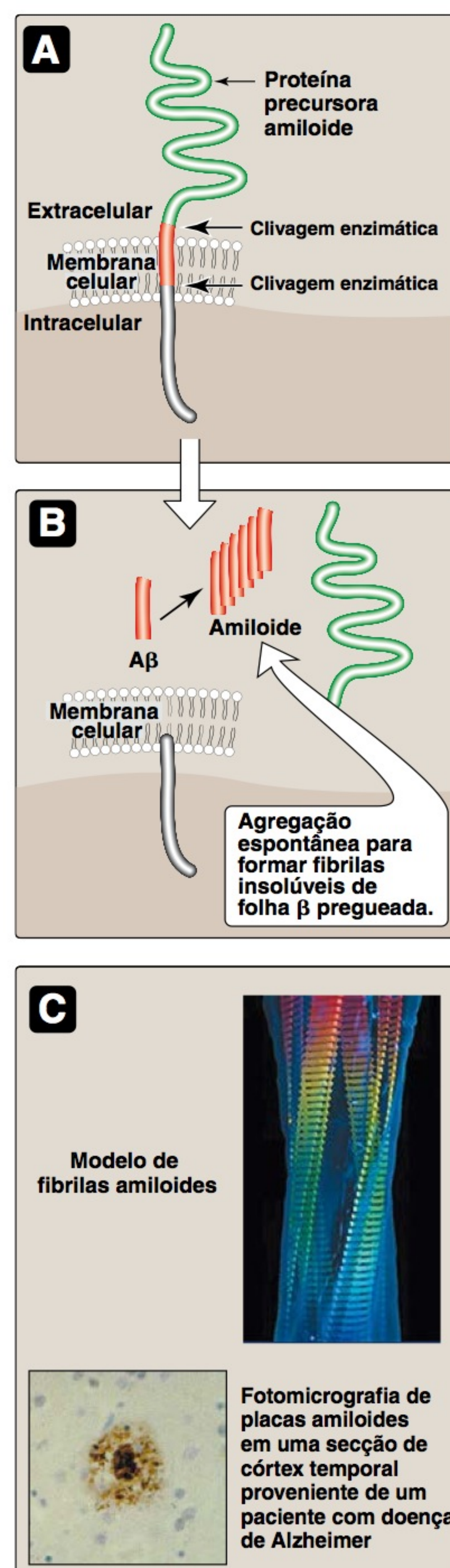
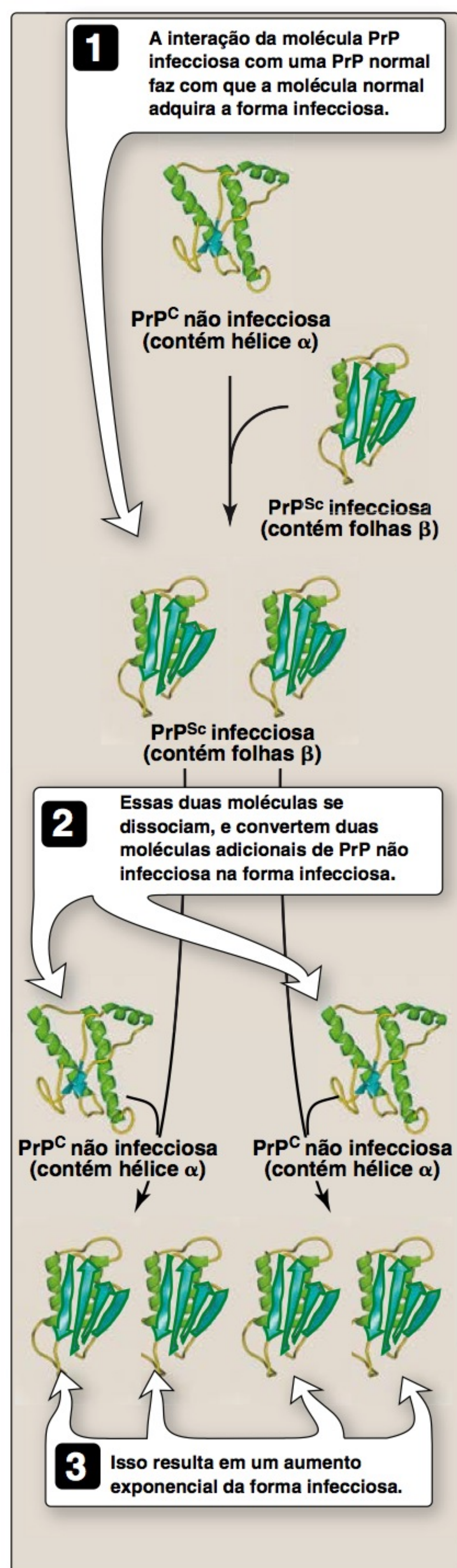


Figura 2.13

Formação das placas amiloides encontradas na doença de Alzheimer.

**Figura 2.14**

Um mecanismo proposto para a multiplicação de agentes prion infecciosos.

B. Doença do prion

A proteína do prion (PrP) tem sido fortemente implicada como o agente causador das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs), incluindo a doença de Creutzfeldt-Jakob em humanos, o scrapie em ovinos e a encefalopatia espongiforme bovina (popularmente conhecida como “doença da vaca louca”)¹. Após uma ampla série de procedimentos de purificação, os cientistas ficaram perplexos ao descobrir que a infecciosidade do agente causador do *scrapie* em ovinos estava associada a uma única espécie de proteína, que não se apresentava complexada a ácidos nucleicos detectáveis. Essa proteína infecciosa é designada PrP^{Sc} (Sc = *scrapie*). Ela é altamente resistente à degradação proteolítica e, na forma infecciosa, tende a formar agregados fibrilares insolúveis, similares à placa amiloide encontrada em outras doenças encefálicas. Uma forma não infecciosa da PrP^C (C = celular), codificada pelo mesmo gene que a forma infecciosa, está presente no encéfalo normal dos mamíferos, na superfície de neurônios e de células gliais. Dessa forma, a PrP^C é uma proteína hospedeira. Não foram encontradas diferenças estruturais primárias ou modificações pós-traducionais entre as formas normal e infecciosa da proteína. A chave para se tornar uma proteína infecciosa aparentemente reside em alterações na conformação tridimensional da PrP^C. Tem sido observado que diversas hélices α presentes na forma não infecciosa da PrP^C são substituídas por folhas β na forma infecciosa (Figura 2.14). Provavelmente, essa diferença de conformação confere relativa resistência à degradação proteolítica de príons infecciosos e lhes permite serem distinguidos da PrP^C normal em tecidos infectados. O agente infeccioso é, então, uma versão alterada da proteína normal, agindo como “molde” ao fazer a proteína normal assumir conformação patogênica. As EETs são sempre fatais e, atualmente, nenhum tratamento é capaz de alterar esse resultado.

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

Para entender a estrutura proteica, é essencial o conceito de conformação nativa (Figura 2.15): a estrutura proteica inteiramente organizada e funcional (p. ex., enzima ativa ou proteína estrutural). A singular estrutura tridimensional da conformação nativa é determinada por sua estrutura primária, isto é, a sua sequência de aminoácidos. As interações entre as cadeias laterais dos aminoácidos direcionam o dobramento da cadeia polipeptídica para formar estruturas secundárias, terciárias e (algumas vezes) quaternárias, as quais cooperam para a estabilização da conformação nativa da proteína. Além disso, as “chaperonas”, um grupo especializado de proteínas, são necessárias para a correta organização de muitas espécies de proteínas. A desnaturação proteica resulta no desdobramento e na desorganização da estrutura proteica, sem que haja hidrólise das ligações peptídicas. A desnaturação pode ser reversível ou, mais frequentemente, irreversível. Doenças podem ocorrer quando uma proteína aparentemente normal adquire conformação citotóxica, como no caso da doença de Alzheimer e das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs), incluindo a doença de Creutzfeldt-Jakob. Na doença de Alzheimer, proteínas normais, após um processo químico anormal, adquirem um estado conformacional que leva à formação de agregados neurotóxicos de proteínas amiloides em forma de folha β pregueada. Nas EETs, o agente infeccioso é uma versão alterada da proteína do prion normal, que age como “molde” por fazer a proteína normal assumir conformação patogênica.



¹Veja o Capítulo 31 em **Microbiologia Ilustrada** para uma discussão mais detalhada acerca dos príons.

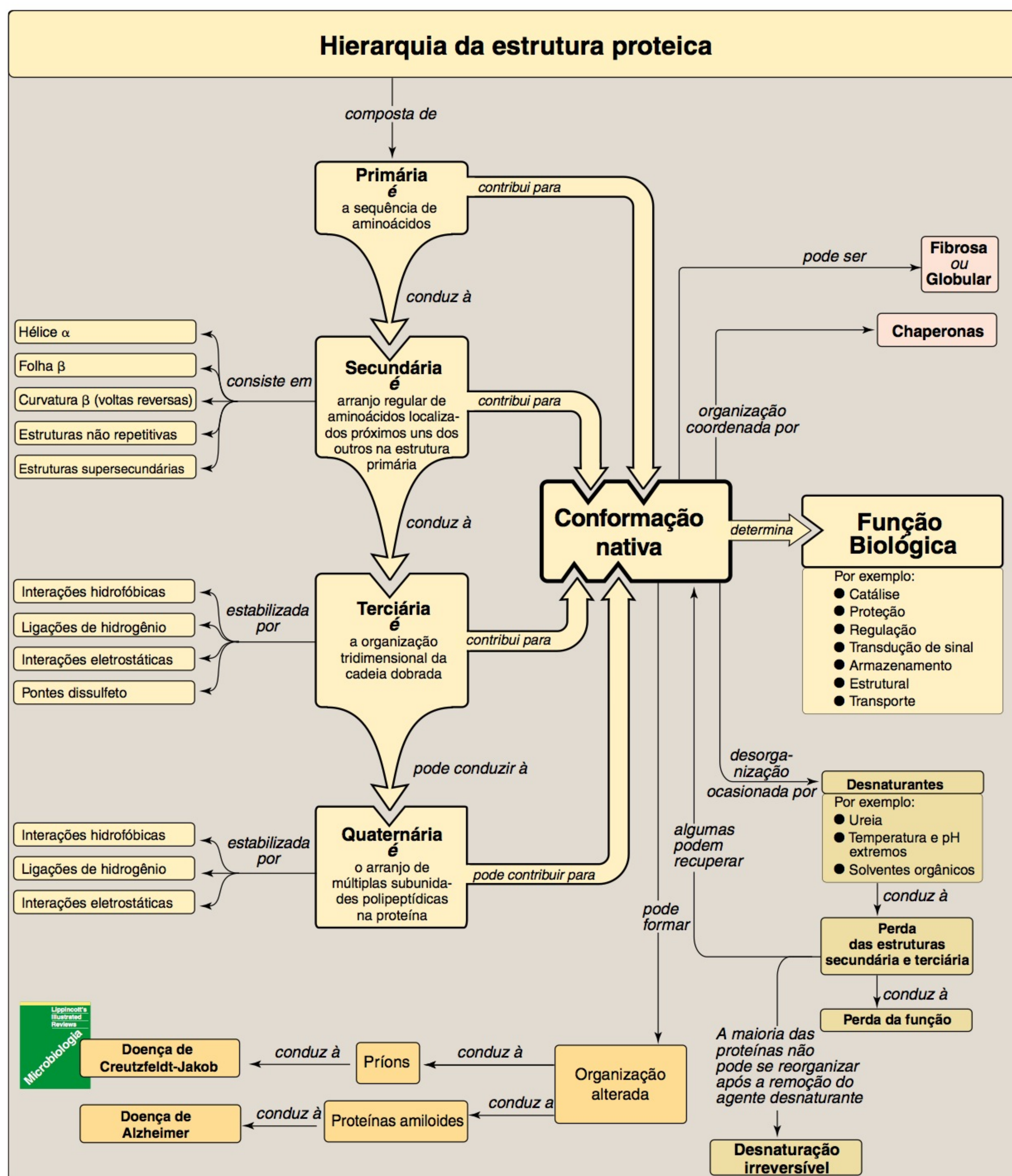


Figura 2.15

Mapa de conceitos-chave referentes à estrutura proteica.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

2.1 Uma ligação peptídica:

- A. Apresenta caráter de dupla-ligação parcial.
- B. Está ionizada em pH fisiológico.
- C. É clivada por agentes que desnaturam proteínas, como solventes orgânicos e altas concentrações de ureia.
- D. É estável ao aquecimento em ácidos fortes.
- E. Ocorre com maior frequência na configuração cis.

Resposta correta = A. A ligação peptídica tem caráter de dupla-ligação parcial. Ao contrário de seus componentes – os grupos α -amino e α -carboxila –, os componentes da ligação peptídica ($-\text{NH}$ e $-\text{C}=\text{O}$) não aceitam ou fornecem prótons. A ligação peptídica não é clivada por solventes orgânicos ou ureia, mas é lábil em meio ácido forte. Geralmente está em configuração trans.

2.2 Qual das seguintes afirmações está correta?

- A. A hélice- α pode ser composta por mais de uma cadeia polipeptídica.
- B. As folhas- β existem somente na forma antiparalela.
- C. As curvaturas β frequentemente contêm prolina.
- D. Os domínios são um tipo de estrutura secundária.
- E. A hélice- α é estabilizada principalmente por interações iônicas entre as cadeias laterais dos aminoácidos.

Resposta correta = C. As curvaturas β frequentemente contêm prolina, que proporciona uma torção. A hélice α difere da folha- β por sempre fazer parte da espiral de uma única cadeia polipeptídica. A estrutura em folha- β pregueada ocorre tanto na forma paralela quanto na forma antiparalela. Os domínios são elementos da estrutura terciária. A hélice α é estabilizada principalmente por ligações de hidrogênio entre os grupos $-\text{C}=\text{O}$ e $-\text{NH}$ das ligações peptídicas.

2.3 Qual das seguintes afirmativas sobre a estrutura proteica está correta?

- A. As proteínas constituídas por uma cadeia polipeptídica podem apresentar estrutura quaternária.
- B. A formação de uma ponte dissulfeto em uma proteína requer que os dois resíduos de cisteína participantes estejam adjacentes entre si, na sequência primária da proteína.
- C. A estabilidade da estrutura quaternária das proteínas se dá principalmente como resultado das ligações covalentes entre as subunidades.
- D. A desnaturação proteica sempre resulta em perda irreversível das estruturas secundária e terciária.
- E. A informação necessária para o dobramento correto de uma proteína está contida na sequência específica dos aminoácidos ao longo da cadeia polipeptídica.

Resposta correta = E. O dobramento correto de uma proteína é guiado por interações específicas entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos que compõem a cadeia polipeptídica. Os dois resíduos de cisteína que reagem para formar uma ponte dissulfeto podem estar distantes um do outro na estrutura primária (ou mesmo em polipeptídeos separados), mas são aproximados pela organização tridimensional da cadeia polipeptídica. A desnaturação pode ser reversível ou não. A estrutura quaternária requer mais de uma cadeia polipeptídica. Essas cadeias encontram-se associadas por meio de interações não covalentes.

2.4 Um homem de 80 anos de idade apresentava prejuízo das funções intelectuais e alterações de humor e de comportamento. Sua família relatou desorientação progressiva e perda de memória durante os últimos seis meses. Não há história familiar de demência. O paciente foi provisoriamente diagnosticado como portador de doença de Alzheimer. Qual das seguintes alternativas melhor descreve a doença?

- A. Está associada com a proteína β -amiloide – uma proteína anormal, com sequência alterada de aminoácidos.
- B. Resulta do acúmulo de proteínas desnaturadas que apresentam conformações aleatórias.
- C. Está associada com o acúmulo da proteína precursora amiloide.
- D. Está associada com o depósito de agregados neurotóxicos de peptídeo amiloide.
- E. É uma doença produzida por ação do ambiente, não influenciada pela genética do indivíduo.
- F. É causada pela forma infecciosa de uma proteína celular “hospedeira”.

Resposta correta = D. A doença de Alzheimer está associada a longos agregados fibrilares proteicos, constituídos de folhas- β pregueadas, encontrados no encéfalo e em outros locais. A doença está relacionada com o processamento anormal de uma proteína normal. O acúmulo da proteína alterada ocorre em uma configuração de folhas β pregueadas, que é neurotóxica. A proteína amiloide $\text{A}\beta$, depositada no encéfalo em decorrência da doença de Alzheimer, é derivada por clivagem proteolítica de uma proteína maior, a proteína precursora amiloide – uma proteína transmembrana expressa na superfície de células neurais e em outros tecidos. A maioria dos casos de doença de Alzheimer são esporádicos, embora pelo menos 5 a 10 por cento dos casos tenham origem familiar. Doenças do Prion, como a doença de Creutzfeldt-Jakob, são causadas pela forma infecciosa (PrP^{Sc}) de uma proteína celular “hospedeira” (PrP^{C}).

Proteínas Globulares

I. VISÃO GERAL

O capítulo anterior descreveu os tipos de estruturas secundária e terciária, que são os tijolos e a argamassa da arquitetura proteica. Com o arranjo desses elementos estruturais básicos em diferentes combinações, é possível construir uma grande diversidade de proteínas, as quais serão capazes de desempenhar uma variedade de funções especializadas. Este capítulo examina a relação entre a estrutura e a função de algumas proteínas globulares clinicamente importantes, as hemoproteínas. As proteínas estruturais fibrosas são discutidas no Capítulo 4.

II. HEMEPROTEÍNAS GLOBULARES

Hemoproteínas são um grupo de proteínas especializadas, as quais contêm heme como grupo prostético firmemente ligado (veja a p. 54 para uma discussão sobre grupos prostéticos). O papel do grupo heme é determinado pelo ambiente criado pela estrutura tridimensional da proteína. Por exemplo, o grupo heme de um citocromo funciona como um carreador de elétrons, sendo alternadamente oxidado e reduzido (veja a p. 76). Em contraste, o grupo heme da enzima catalase é parte do sítio ativo da enzima, a qual catalisa a quebra do peróxido de hidrogênio (veja a p. 148). Na hemoglobina e na mioglobina, as duas hemoproteínas mais abundantes em humanos, o grupo heme serve para ligar, de forma reversível, o oxigênio.

A. Estrutura do heme

O heme é um complexo de protoporfirina IX e íon ferroso (Fe^{2+}) (Figura 3.1). O ferro está preso no centro da molécula do heme por meio de ligações aos quatro nitrogênios do anel porfirínico. O Fe^{2+} do heme pode formar duas ligações adicionais, uma de cada lado do plano do anel porfirínico. Por exemplo, na mioglobina e na hemoglobina, uma dessas posições estabelece uma interação coordenada com a cadeia lateral de um resíduo de histidina da molécula da globina, enquanto a outra posição fica disponível para ligar o oxigênio (Figura 3.2) (veja a p. 278 para uma discussão sobre a síntese e a degradação do heme).

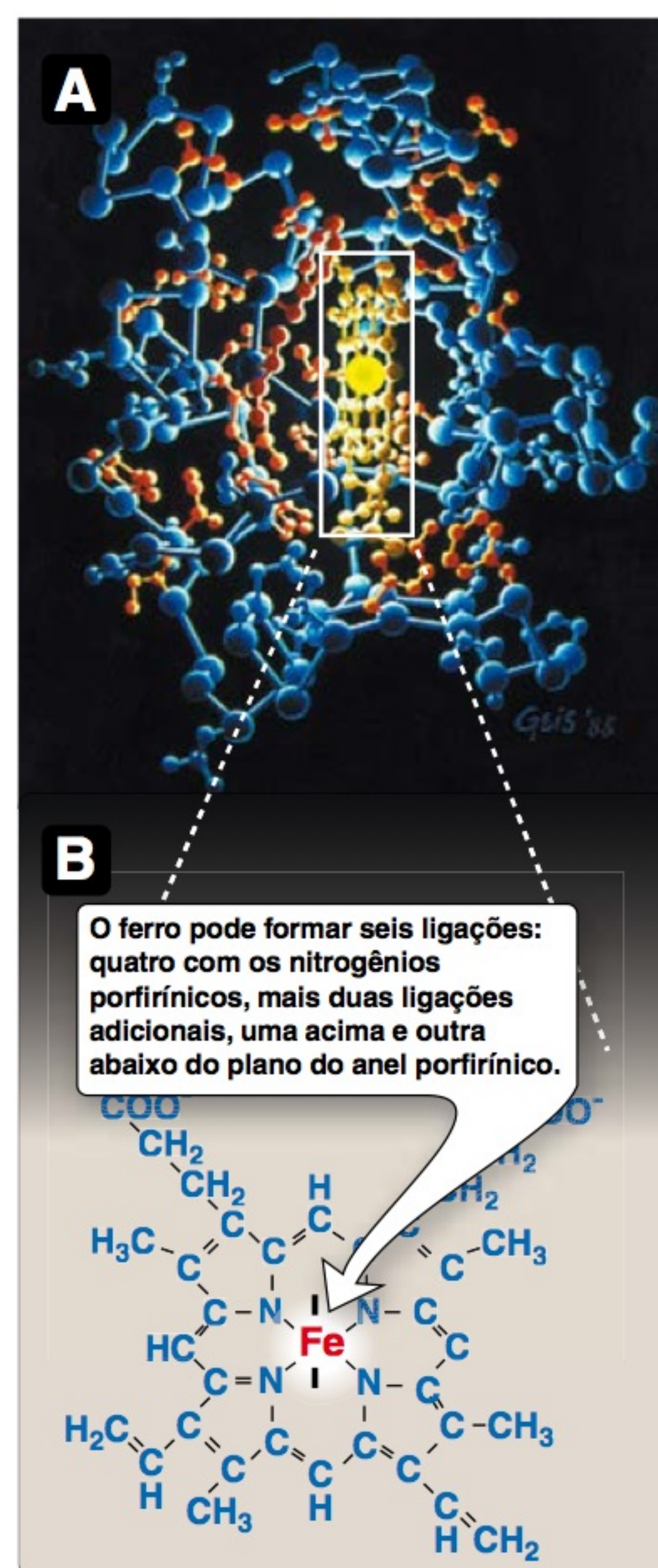
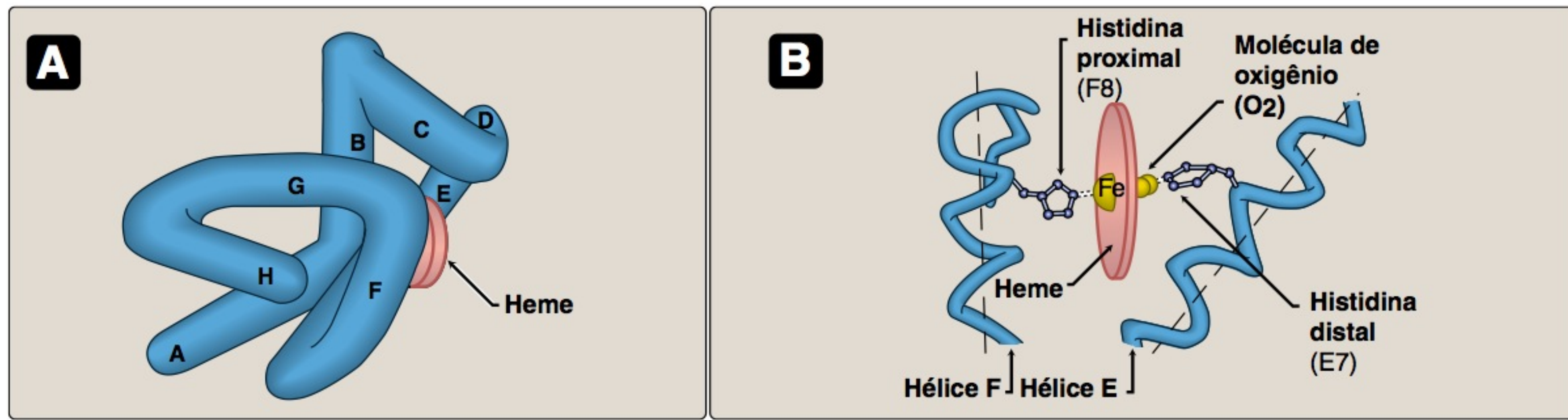


Figura 3.1

A. Hemoproteína (citocromo c).
B. Estrutura do heme.

**Figura 3.2**

A. Modelo da mioglobina, mostrando as hélices de A a H. B. Diagrama esquemático do sítio de ligação do oxigênio na mioglobina.

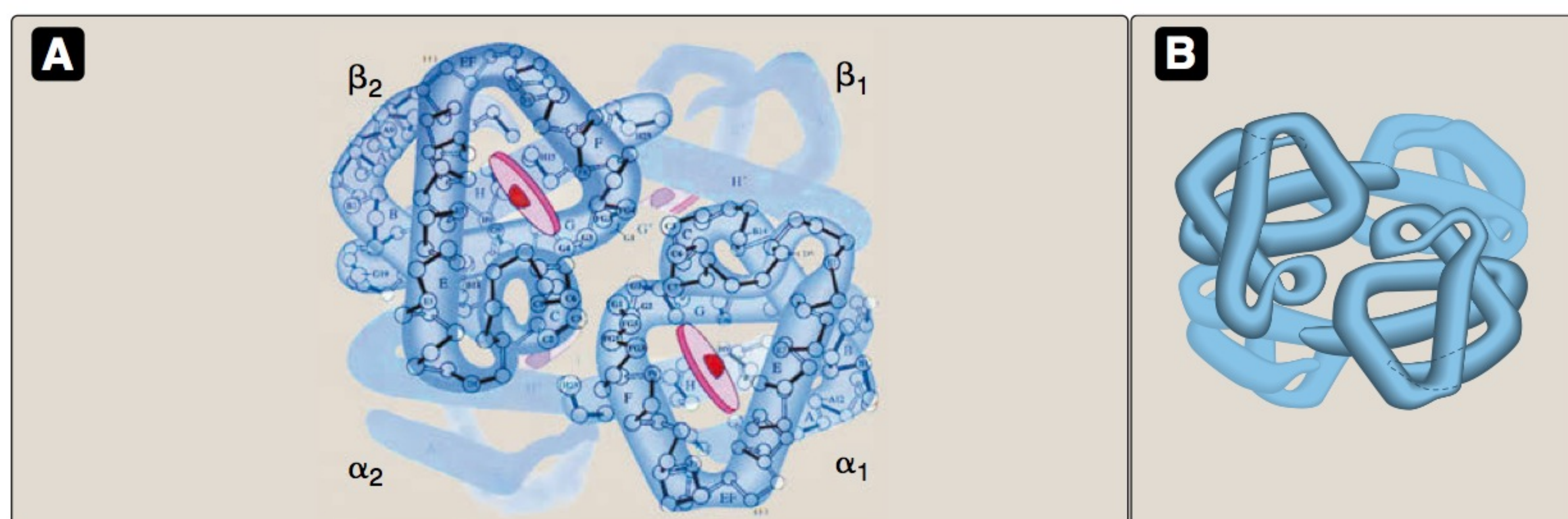
B. Estrutura e função da mioglobina

A mioglobina, uma hemoproteína presente no coração e no músculo esquelético, funciona tanto como um reservatório quanto como um carreador de oxigênio, que aumenta a velocidade de transporte de oxigênio dentro da célula muscular. A mioglobina consiste em uma única cadeia polipeptídica, a qual é estruturalmente similar a uma das cadeias polipeptídicas individuais que constituem as subunidades da molécula da hemoglobina. Essa homologia torna a mioglobina um modelo útil para interpretar algumas das propriedades mais complexas da hemoglobina.

- 1. Conteúdo de hélice α .** A mioglobina é uma molécula compacta, com aproximadamente 80% de sua cadeia polipeptídica dobrada em oito segmentos de hélice α . Essas regiões α -helicoidais, marcadas de A a H na Figura 3.2A, são delimitadas pela presença de prolina, cujo anel de cinco membros não pode ser acomodado na hélice α (veja a p. 16), ou por curvaturas β e alças estabilizadas por ligações de hidrogênio e ligações iônicas (veja a p. 17).
- 2. Localização dos resíduos de aminoácidos polares e apolares.** O interior da molécula de mioglobina é constituído quase que inteiramente por aminoácidos apolares. Eles estão compactados, formando uma estrutura estabilizada por interações hidrofóbicas entre esses resíduos (veja a p. 19). Em contraste, os aminoácidos carregados estão localizados quase que exclusivamente na superfície da molécula, onde podem formar ligações de hidrogênio entre si e com a água.
- 3. Ligação do grupo heme.** O grupo heme da mioglobina se situa em uma fenda na molécula, a qual é revestida por aminoácidos apolares. Exceções notáveis são dois resíduos de histidina (Figura 3.2B). O primeiro, a histidina proximal (F8), liga-se diretamente ao ferro do grupo heme. O segundo, ou histidina distal (E7), não interage diretamente com o grupo heme, mas ajuda a estabilizar a ligação do oxigênio ao íon ferroso. A porção proteica da mioglobina, ou globina, cria assim um microambiente especial para o grupo heme, permitindo a ligação reversível de uma molécula de oxigênio (oxigenação). A perda simultânea de elétrons pelo íon ferroso (oxidação) ocorre apenas raramente.

C. Estrutura e função da hemoglobina

A hemoglobina é encontrada exclusivamente nos eritrócitos; sua principal função é transportar oxigênio (O_2) dos pulmões até os capilares dos tecidos. A hemoglobina A, a principal hemoglobina em adultos, é composta


Figura 3.3

A. Estrutura da hemoglobina, mostrando o esqueleto polipeptídico. B. Desenho simplificado, mostrando as hélices.

por quatro cadeias polipeptídicas – duas cadeias alfa (α) e duas cadeias beta (β) – unidas por meio de interações não covalentes (Figura 3.3). Cada subunidade contém segmentos de estrutura em hélice α , além de uma fenda, ou bolso, onde se liga o grupo heme, de forma similar ao descrito para a mioglobina. A molécula tetramérica da hemoglobina, no entanto, é estrutural e funcionalmente mais complexa do que a mioglobina. Por exemplo, a hemoglobina pode transportar H^+ e CO_2 dos tecidos até os pulmões e pode carregar quatro moléculas de O_2 dos pulmões às células dos tecidos do corpo. Além disso, as propriedades de ligação do oxigênio na hemoglobina são reguladas por interações com efetores alostéricos (veja a p. 29).

Obter oxigênio da atmosfera apenas por difusão limita enormemente o tamanho dos organismos. Sistemas circulatórios superam esse problema, porém são necessárias moléculas de transporte como a hemoglobina, pois o O_2 é apenas fracamente solúvel em soluções aquosas como o sangue.

1. **Estrutura quaternária da hemoglobina.** O tetrâmero da hemoglobina pode ser considerado como a associação de dois dímeros idênticos, $(\alpha\beta)_1$ e $(\alpha\beta)_2$, em que o número se refere aos dímeros um e dois. As duas cadeias polipeptídicas em cada dímero são unidas firmemente, em especial por meio de interações hidrofóbicas (Figura 3.4). (Nota: nesse caso, os resíduos de aminoácidos hidrofóbicos estão localizados não apenas no interior da molécula, mas também em uma região da superfície na interface de cada subunidade. As interações hidrofóbicas intercadeia formam fortes associações entre as subunidades α e as subunidades β nos dímeros.) Ligações iônicas e ligações de hidrogênio também ocorrem entre os membros do dímero. Em contraste, os dois dímeros são capazes de se mover um em relação ao outro, sendo mantidos unidos principalmente por meio de ligações polares. As interações mais fracas entre esses dímeros móveis resultam em duas conformações relativamente diferentes, observadas na desoxiemoglobina, com relação à oxiemoglobina (Figura 3.4). (Nota: a ligação do O_2 ao ferro do grupamento heme empurra esse ferro para dentro do plano do grupamento heme. Uma vez que o ferro também está ligado à

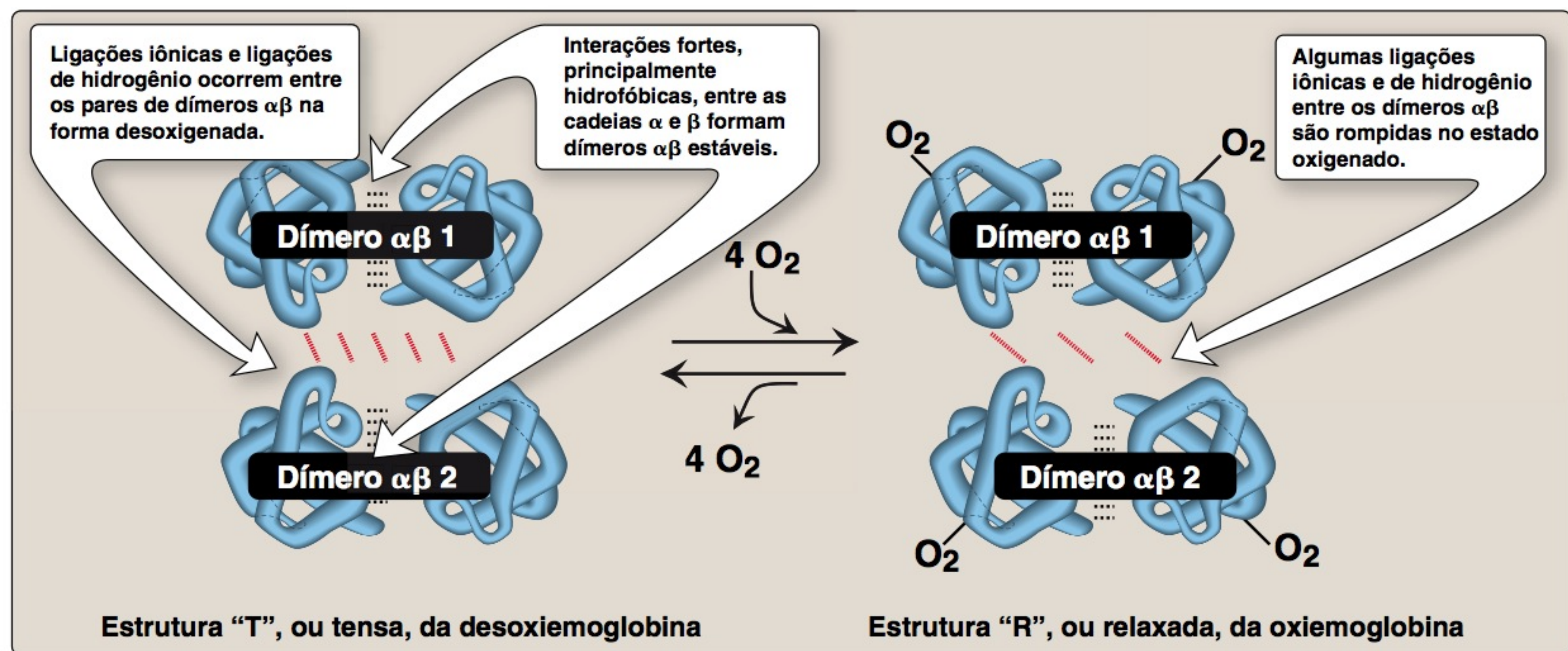
**Figura 3.4**

Diagrama esquemático mostrando mudanças estruturais resultantes da oxigenação e desoxigenação da hemoglobina.

histidina proximal (F8), existe um movimento das cadeias de globina que altera a interface entre os dímeros $\alpha\beta$.)

- a. **Forma T.** A forma desoxigenada da hemoglobina é chamada de "T", ou forma tensa. Na forma T, os dois dímeros $\alpha\beta$ interagem por meio de uma rede de ligações iônicas e ligações de hidrogênio, que restringem os movimentos das cadeias polipeptídicas. A forma T é a forma da hemoglobina com baixa afinidade pelo oxigênio.
- b. **Forma R.** A ligação do oxigênio à hemoglobina causa a ruptura de algumas ligações iônicas e ligações de hidrogênio entre os dímeros $\alpha\beta$. Isso leva a uma estrutura chamada de "R", ou forma relaxada, na qual as cadeias polipeptídicas têm maior liberdade de movimentos (Figura 3.4). A forma R é a forma da hemoglobina com alta afinidade pelo oxigênio.

D. A ligação do oxigênio à mioglobina e à hemoglobina

A mioglobina pode ligar somente uma molécula de oxigênio (O_2), porque contém apenas um grupo heme. Em contraste, a hemoglobina pode ligar quatro moléculas de oxigênio – uma para cada um de seus quatro grupos heme. O grau de saturação (Y) desses sítios de ligação ao oxigênio em todas as moléculas de mioglobina ou hemoglobina pode variar de zero (quando todos os sítios estão vazios) a 100% (quando todos os sítios estão preenchidos; Figura 3.5).

1. **Curva de dissociação do oxigênio.** Uma curva da saturação (Y) medida em diferentes pressões parciais de oxigênio (pO_2) é chamada de curva de dissociação do oxigênio. As curvas para a mioglobina e para a hemoglobina apresentam diferenças importantes (Figura 3.5). Esse gráfico ilustra que a mioglobina tem maior afinidade por oxigênio do que a hemoglobina, em todas as pO_2 . A pressão parcial de oxigênio necessária para obter metade da saturação dos sítios de ligação (P_{50}) é de aproximadamente 1 mmHg para a mioglobina e 26 mmHg para a hemoglobina. Quanto maior a afinidade por oxigênio

(i. e., quanto mais fortemente a molécula liga-se ao oxigênio), menor a P_{50} . (Nota: a pO_2 também pode ser representada como PO_2 .)

- a. **Mioglobina (Mb).** A curva de dissociação do oxigênio da mioglobina possui uma forma hiperbólica (Figura 3.5). Isso reflete o fato de que a mioglobina liga-se reversivelmente a apenas uma molécula de oxigênio. Assim, a mioglobina oxigenada (MbO_2) e a desoxigenada (Mb) estão em um equilíbrio simples:



O equilíbrio é deslocado para a direita ou para a esquerda à medida que o oxigênio é adicionado ou removido do sistema. (Nota: a mioglobina tem a função de ligar o oxigênio liberado pela hemoglobina nas baixas pO_2 encontradas no músculo. A mioglobina, por sua vez, libera o oxigênio dentro da célula muscular em resposta à demanda de oxigênio.)

- b. **Hemoglobina (Hb).** A curva de dissociação do oxigênio da hemoglobina tem forma sigmoidal (Figura 3.5), indicando que as subunidades cooperam na ligação do oxigênio. A ligação cooperativa do oxigênio às quatro subunidades da hemoglobina significa que a ligação de uma molécula de oxigênio a um dos grupos heme aumenta a afinidade por oxigênio dos grupos heme restantes na mesma molécula de hemoglobina (Figura 3.6). Esse efeito é denominado interação heme-heme (veja a seguir). Embora seja mais difícil para a primeira molécula de oxigênio ligar-se à hemoglobina, a ligação subsequente de oxigênio ocorre com alta afinidade, como demonstrado pela curva rapidamente ascendente na região de 20 a 30 mmHg (Figura 3.5).

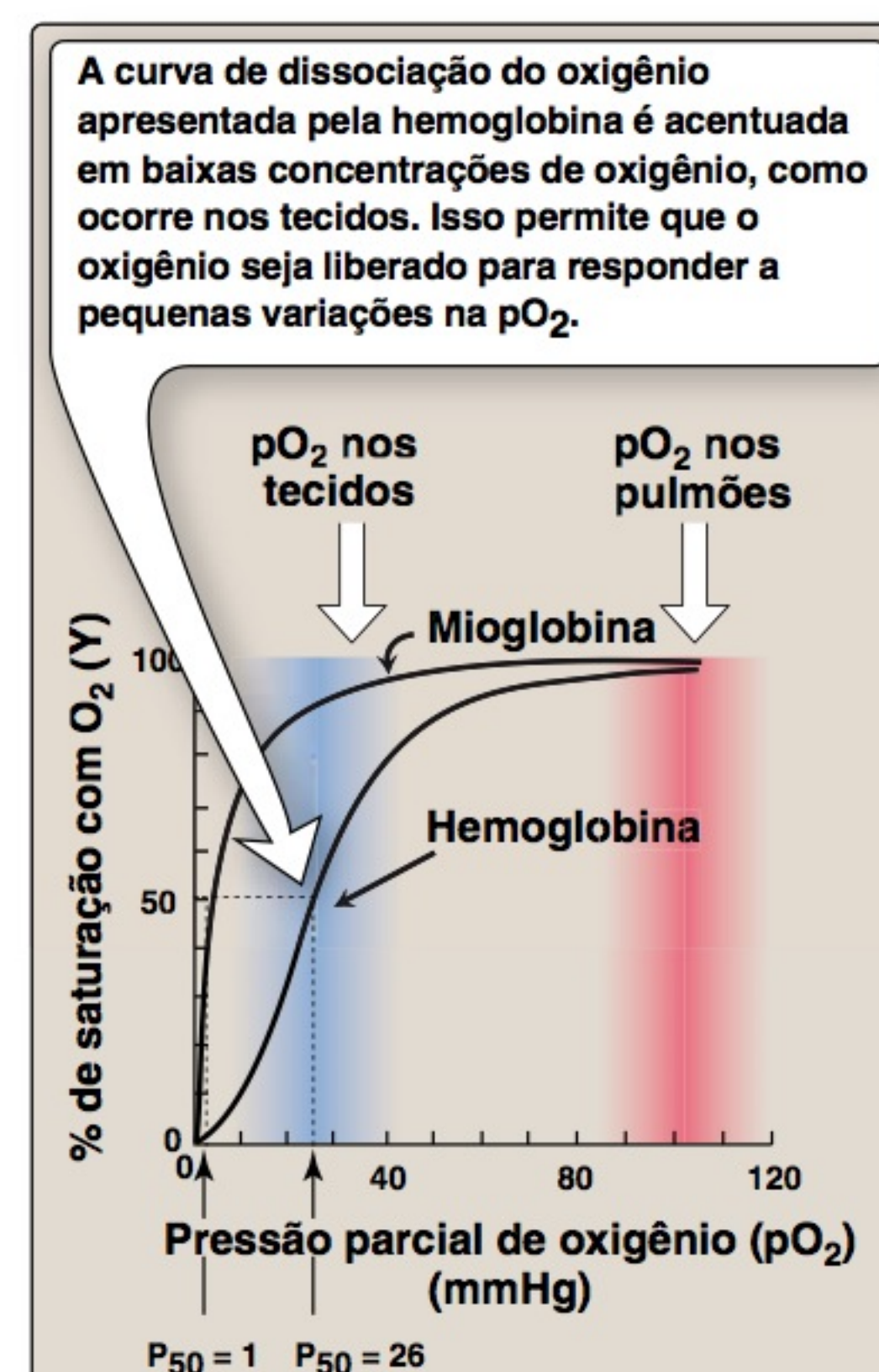


Figura 3.5

Curvas de dissociação do oxigênio para a mioglobina e para a hemoglobina.

E. Efeitos alostéricos

A capacidade da hemoglobina para ligar-se reversivelmente ao oxigênio é afetada pela pO_2 (devido às interações heme-heme, conforme descrito anteriormente), pelo pH do ambiente, pela pressão parcial de dióxido de carbono, pCO_2 , e pela disponibilidade de 2,3-bisfosfoglicerato. Esses são coletivamente chamados de efetores alostéricos ("em outro sítio"), pois sua interação com um sítio na molécula da hemoglobina afeta a ligação do oxigênio aos grupos heme em outras regiões da molécula. (Nota: a ligação do oxigênio à mioglobina não é influenciada por efetores alostéricos.)

1. **Interações heme-heme.** A curva sigmoidal de dissociação do oxigênio reflete mudanças estruturais específicas, as quais são iniciadas em um dos grupos heme e são transmitidas aos outros grupos da estrutura tetramérica da hemoglobina. O efeito líquido é que a afinidade da hemoglobina pelo último oxigênio a se ligar é aproximadamente 300 vezes maior do que a afinidade pelo primeiro oxigênio ligado.

- a. **Ligando e liberando o oxigênio.** A ligação cooperativa do oxigênio permite à hemoglobina liberar mais oxigênio aos tecidos em resposta a variações relativamente pequenas na pressão parcial de oxigênio. Isso pode ser observado na Figura 3.5, onde está indicada a pressão parcial de oxigênio (pO_2) nos alvéolos pulmonares e nos capilares dos tecidos. Por exemplo, nos pulmões, a concentração de oxigênio é maior, e a hemoglobina se torna praticamente saturada (ou "carregada") com oxigênio. Em contraste, nos tecidos periféricos, a oxiemoglobina libera (ou

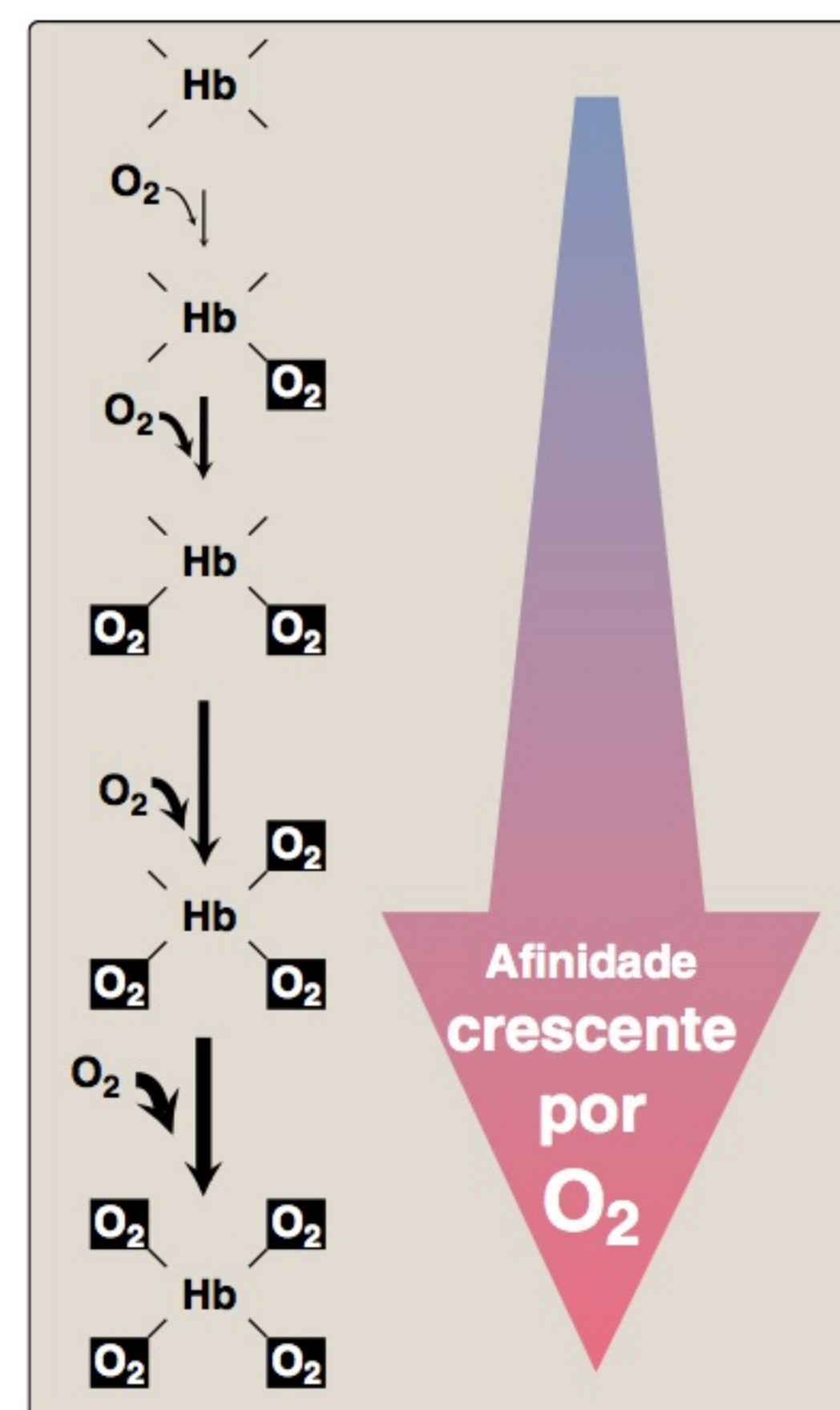


Figura 3.6

A hemoglobina liga o oxigênio com afinidade crescente.

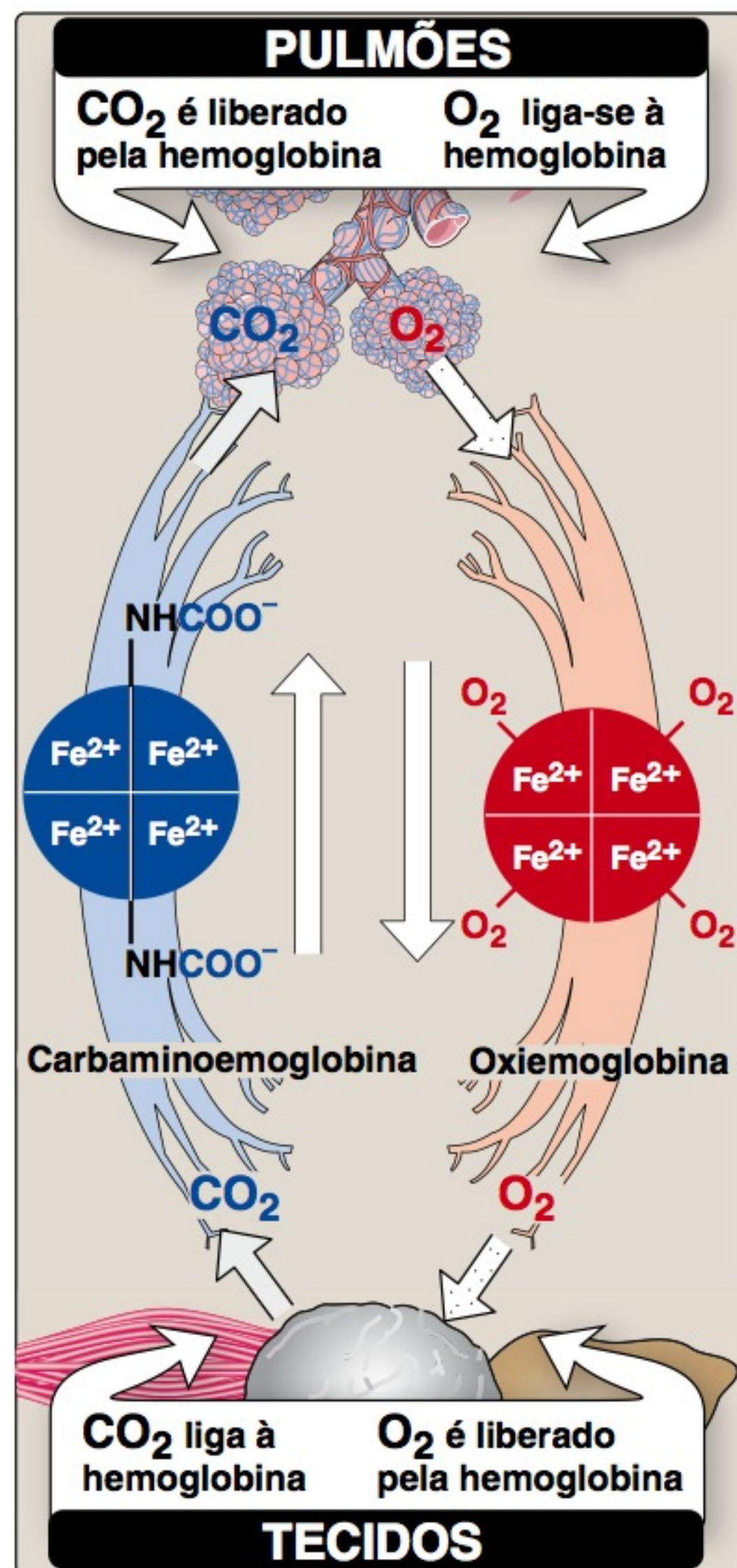


Figura 3.7

Transporte de O_2 e CO_2 pela hemoglobina.

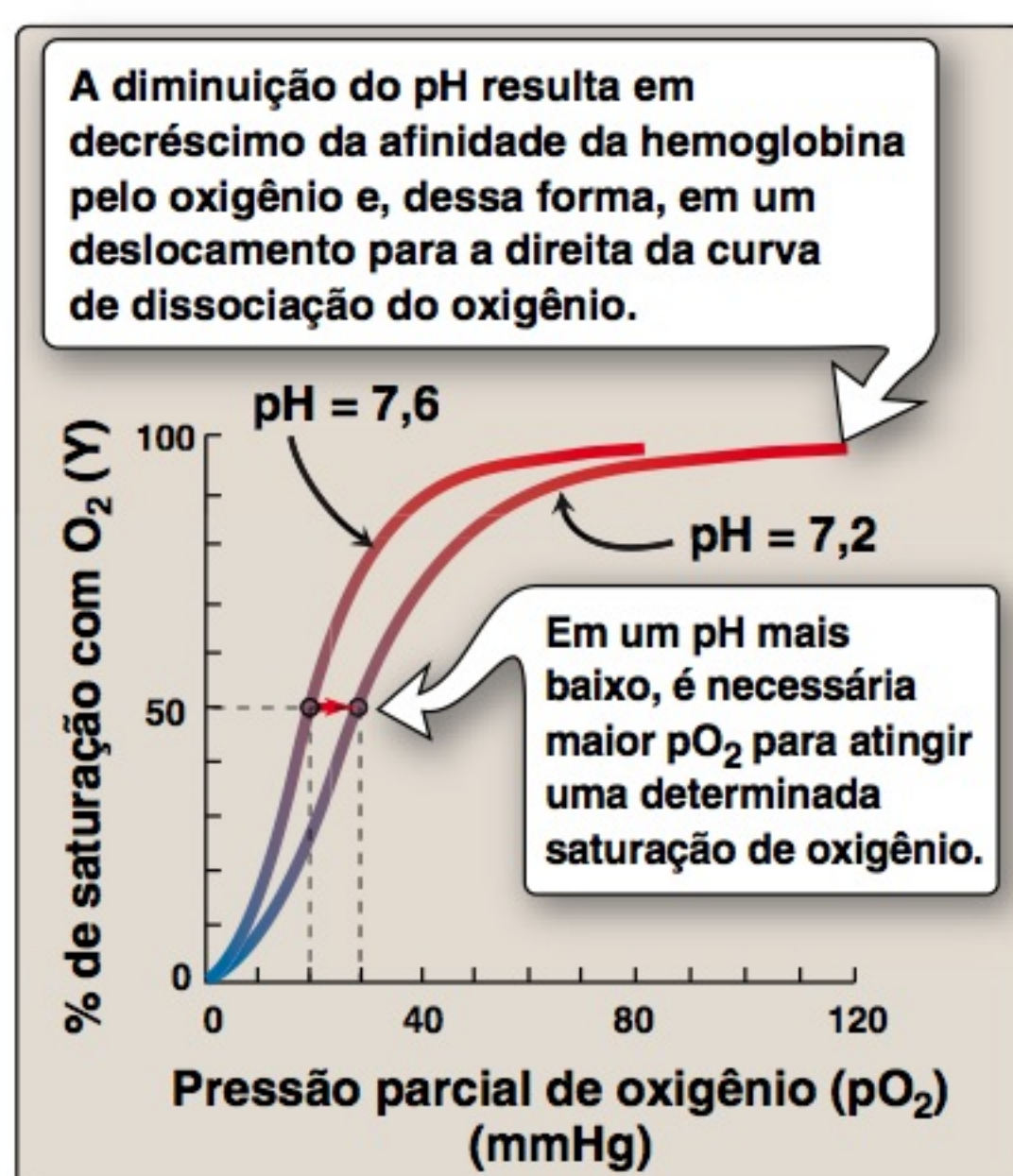


Figura 3.8

Efeito do pH sobre a afinidade da hemoglobina por oxigênio. Prótons são efetores alostéricos da hemoglobina.

“descarrega”) a maior parte de seu oxigênio para utilização no metabolismo oxidativo dos tecidos (Figura 3.7).

b. Significado da curva sigmoidal de dissociação do oxigênio.

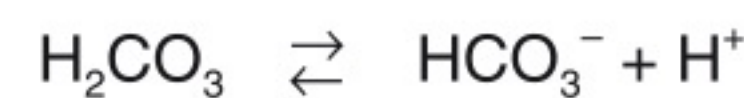
A inclinação abrupta da curva de dissociação do oxigênio na faixa de concentração de oxigênio que ocorre entre os pulmões e os tecidos permite que a hemoglobina transporte e libere o oxigênio de forma eficiente, desde os sítios de alta pO_2 até os sítios de baixa pO_2 . Uma molécula com a curva de dissociação hiperbólica, como a mioglobina, não poderia apresentar o mesmo grau de liberação de oxigênio nessa faixa de pressão parcial de oxigênio. Pelo contrário, ela teria afinidade máxima por oxigênio em toda essa faixa de pressão de oxigênio e, dessa forma, não o liberaria para os tecidos.

2. **Efeito Bohr.** A liberação do oxigênio pela hemoglobina é aumentada quando o pH diminui ou quando a hemoglobina está na presença de uma pressão parcial de pCO_2 aumentada. Nos dois casos, há redução da afinidade da hemoglobina por oxigênio e, portanto, um deslocamento da curva de dissociação do oxigênio para a direita (Figura 3.8). Ambos, dessa forma, estabilizam o estado T. Essa alteração na ligação do oxigênio é denominada de efeito Bohr. Por sua vez, o aumento do pH e a redução da concentração de CO_2 resultam em maior afinidade por oxigênio e em um deslocamento da curva de dissociação do oxigênio para a esquerda, com estabilização do estado R.

- a. **Origem dos prótons que diminuem o pH.** A concentração de ambos, CO_2 e H^+ , nos capilares dos tecidos metabolicamente ativos é maior do que aquela observada nos capilares alveolares dos pulmões, onde o CO_2 é liberado no ar expirado. (Nota: ácidos orgânicos, como o ácido láctico, são produzidos durante o metabolismo anaeróbio no músculo em contração rápida [veja a p. 103].) Nos tecidos, o CO_2 é convertido pela anidrase carbônica em ácido carbônico:



o qual perde espontaneamente um próton, tornando-se bicarbonato (o principal tampão do sangue):

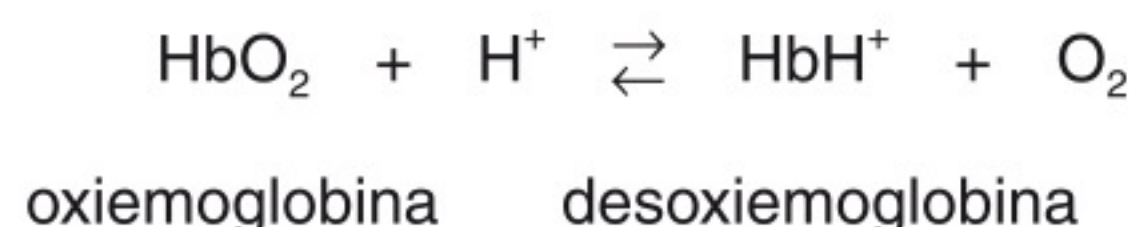


O H^+ produzido por esse par de reações contribui para a redução do pH. Esse gradiente diferencial de pH (os pulmões com pH mais alto e os tecidos com pH mais baixo) favorece a liberação de oxigênio nos tecidos periféricos e a associação ao oxigênio no pulmão. Assim, a afinidade da molécula da hemoglobina por oxigênio responde a pequenas alterações no pH entre os pulmões e os tecidos que consomem oxigênio, tornando a hemoglobina um transportador de oxigênio mais eficiente.

- b. **Mecanismo do efeito Bohr.** O efeito Bohr reflete o fato de que a forma desoxi da hemoglobina possui maior afinidade por prótons que a oxiemoglobina. Esse efeito é causado por grupos ionizáveis, como cadeias laterais específicas de histidina, que possuem pK_a mais altos na desoxiemoglobina do que na oxiemoglobina. Assim, um aumento na concentração de prótons

(resultando na diminuição do pH) faz com que esses grupos fiquem protonados (carregados) e capazes de formar ligações iônicas (também chamadas pontes salinas). Essas ligações estabilizam preferencialmente a forma desoxi da hemoglobina, produzindo uma redução na afinidade por oxigênio.

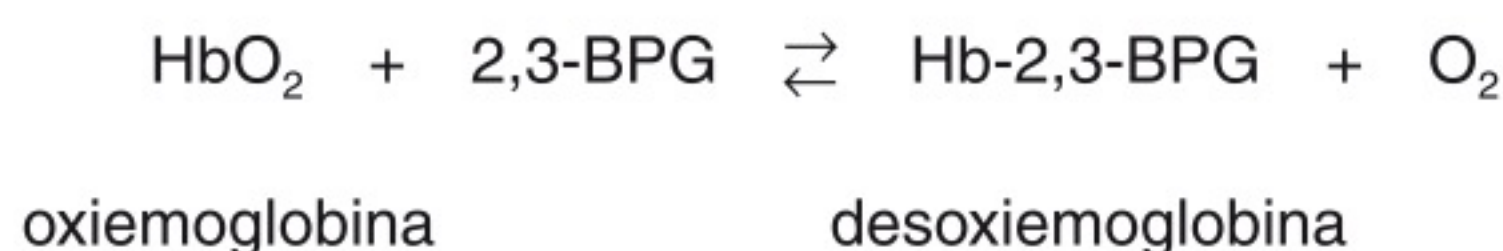
O efeito Bohr pode ser representado esquematicamente como:



onde um aumento de prótons (ou a redução da $p\text{O}_2$) desloca o equilíbrio para a direita (em favor da desoxiemoglobina), enquanto um aumento na $p\text{O}_2$ (ou redução de prótons) desloca o equilíbrio para a esquerda.

- 3. Efeito do 2,3-bisfosfoglicerato sobre a afinidade por oxigênio.** O 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) é um importante regulador da ligação do oxigênio à hemoglobina. É o fosfato orgânico mais abundante nos eritrócitos, onde sua concentração é aproximadamente equivalente à da hemoglobina. O 2,3-BPG é sintetizado a partir de um intermediário da rota glicolítica (Figura 3.9; veja a p. 101 para uma discussão acerca da síntese do 2,3-BPG na glicólise).

- a. Ligação do 2,3-BPG à desoxiemoglobina.** O 2,3-BPG diminui a afinidade da hemoglobina por oxigênio, por ligar-se à desoxiemoglobina, mas não à oxiemoglobina. Essa ligação preferencial estabiliza a conformação tensionada da desoxiemoglobina. O efeito da ligação do 2,3-BPG pode ser representado esquematicamente como:



- b. Sítio de ligação do 2,3-BPG.** Uma molécula de 2,3-BPG liga-se a uma fenda formada pelas duas cadeias de β -globina, no centro do tetrâmero da desoxiemoglobina (Figura 3.10). Essa fenda contém vários aminoácidos carregados positivamente, que formam ligações iônicas com os grupos fosfato carregados negativamente do 2,3-BPG. (Nota: uma mutação em um desses resíduos resulta em variantes de hemoglobina com afinidade anormalmente elevada por oxigênio.) O 2,3-BPG é expelido na oxigenação da hemoglobina.

- c. Deslocamento da curva de dissociação do oxigênio.** A molécula de hemoglobina da qual o 2,3-BPG foi removido possui uma alta afinidade por oxigênio. Entretanto, conforme observado no eritrócito, a presença de 2,3-BPG reduz significativamente a afinidade da hemoglobina por oxigênio, deslocando a curva de dissociação do oxigênio para a direita (Figura 3.11). Essa afinidade reduzida permite que a hemoglobina libere o oxigênio eficientemente nas pressões parciais encontradas nos tecidos.

- d. Resposta dos níveis de 2,3-BPG à hipoxia e anemia crônicas.** A concentração de 2,3-BPG no eritrócito aumenta em res-

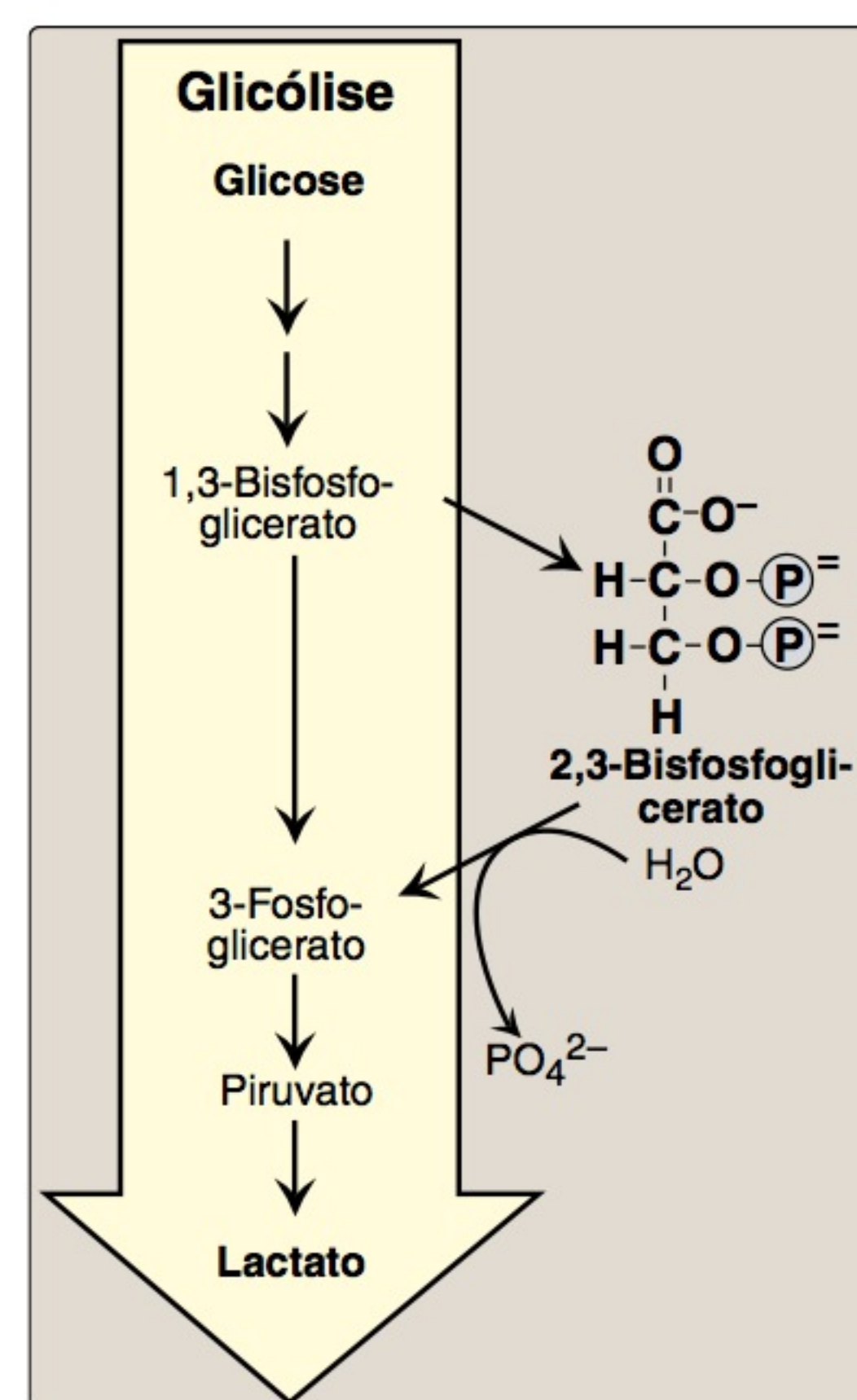


Figura 3.9

Síntese de 2,3-bisfosfoglicerato. (Nota: P é um grupo fosforila.) Na literatura mais antiga, o 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) pode ser encontrado com o nome 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG).

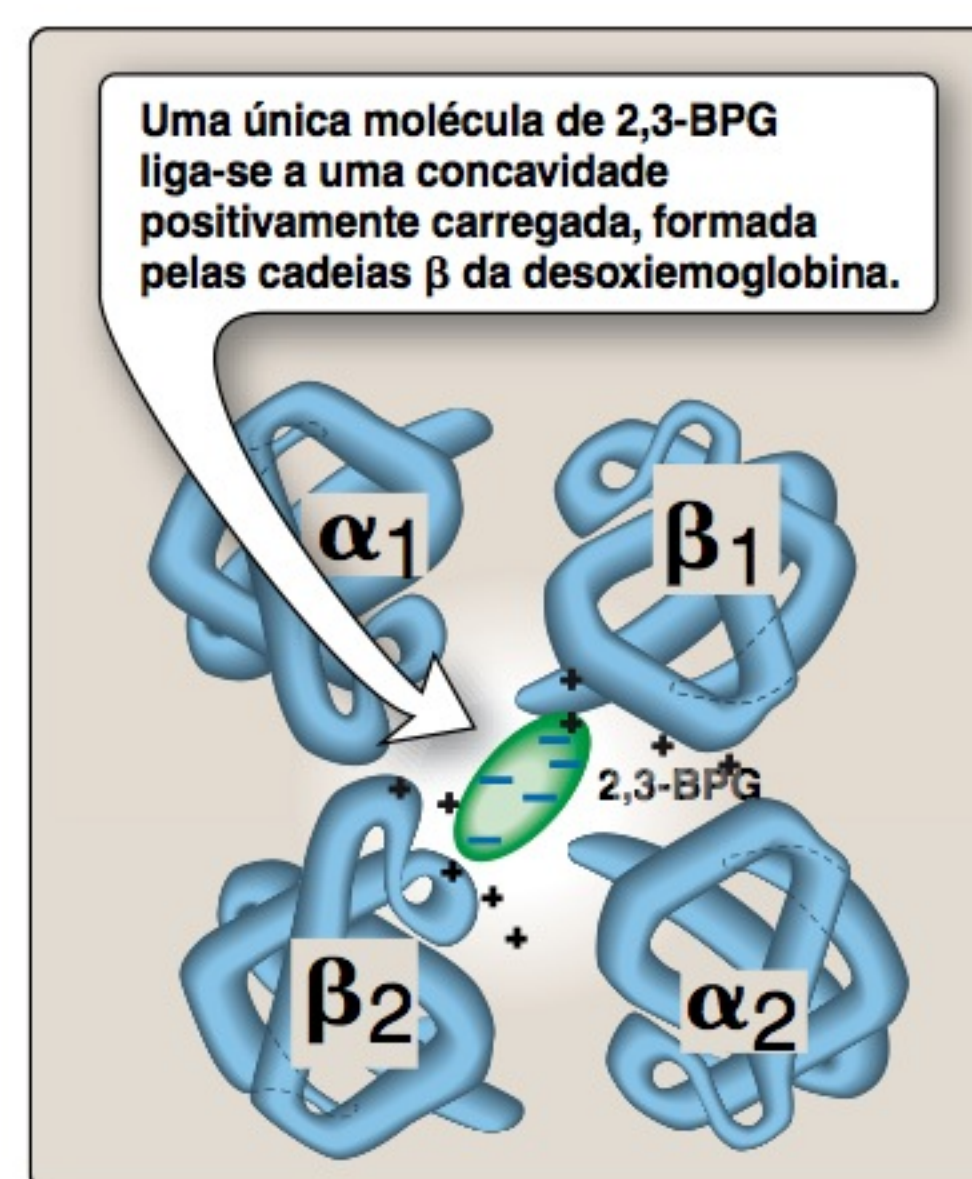


Figura 3.10

Ligação do 2,3-BPG à desoxiemoglobina.

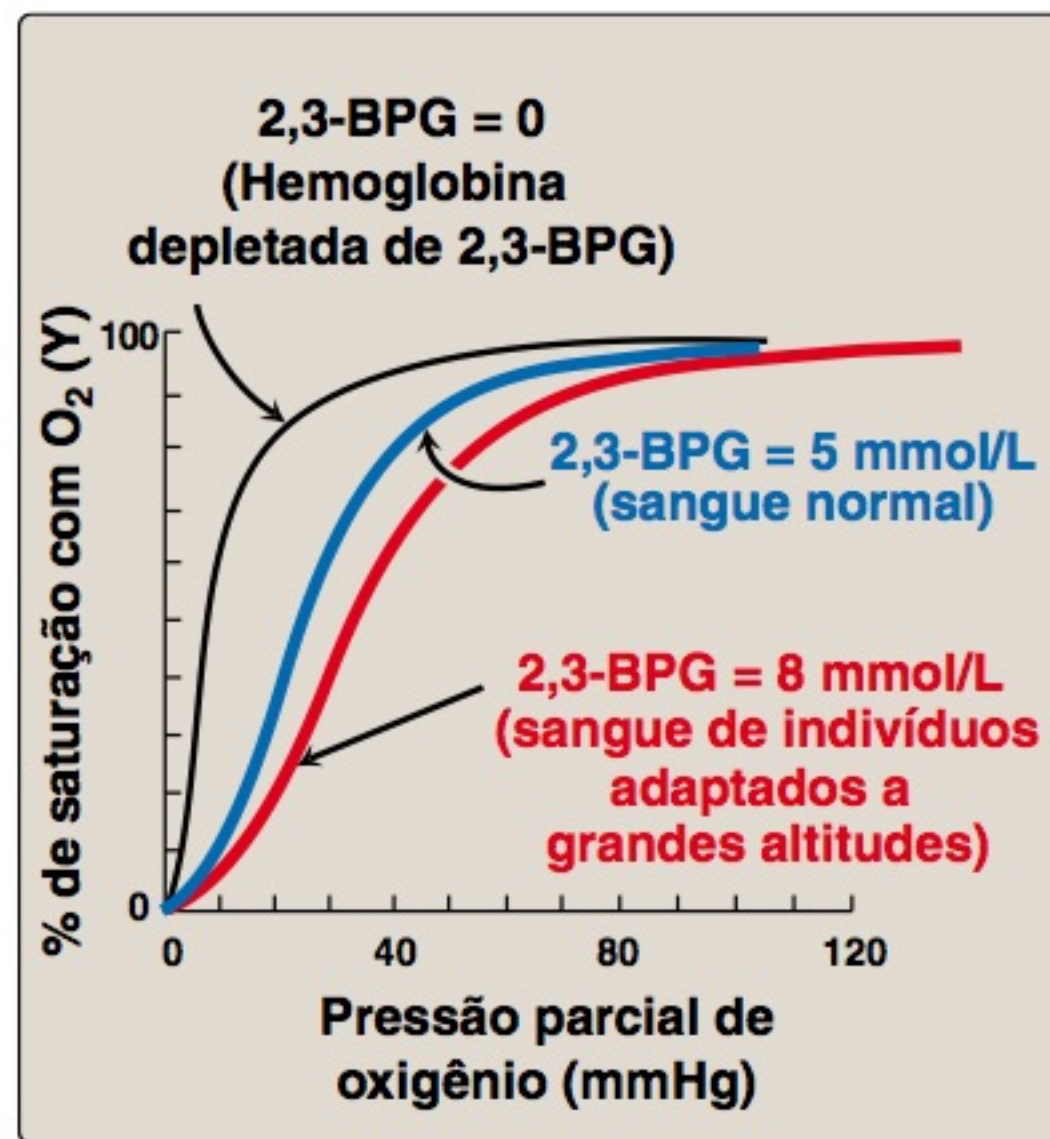


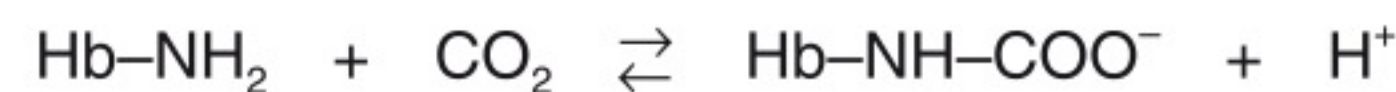
Figura 3.11

Efeito alostérico do 2,3-BPG sobre a afinidade da hemoglobina por oxigênio.

posta à hipoxia crônica, como observado em doenças pulmonares obstrutivas crônicas, como no enfisema, ou em altitudes elevadas, quando a hemoglobina circulante pode ter dificuldade em receber oxigênio suficiente. Os níveis de 2,3-BPG também são elevados na anemia crônica, quando menos eritrócitos que o normal estão disponíveis para suprir as necessidades de oxigênio do organismo. Níveis elevados de 2,3-BPG diminuem a afinidade da hemoglobina por oxigênio, permitindo descarga maior de oxigênio nos capilares dos tecidos (Figura 3.11).

- e. Papel do 2,3-BPG no sangue transfundido.** O 2,3-BPG é essencial para a função normal de transporte de oxigênio da hemoglobina. No entanto, o armazenamento do sangue nos meios atualmente disponíveis resulta em uma redução no 2,3-BPG. O sangue armazenado apresenta uma afinidade por oxigênio anormalmente elevada e apresenta dificuldade em liberá-lo de forma adequada para os tecidos. Assim, a hemoglobina deficiente em 2,3-BPG atua como uma espécie de “captador” para o oxigênio e não como um sistema de transporte para o mesmo. Embora os eritrócitos transfundidos sejam capazes de restaurar seus suprimentos esgotados de 2,3-BPG em 6 a 24 horas, pacientes com doenças graves podem ter seu estado comprometido se transfundidos com grandes quantidades desse sangue “despojado” de 2,3-BPG. (Nota: o tempo máximo de armazenamento de eritrócitos tem sido dobrado [21 para 42 dias, com um tempo médio de 15 dias] por mudanças nas concentrações de H^+ , fosfato e hexoses, e pela adição de adenina [veja a p. 291]. Embora os conteúdos de 2,3-BPG não sejam grandemente afetados por essas alterações, a produção de ATP foi aumentada, melhorando a sobrevivência dos eritrócitos.)

- 4. Ligação do CO_2 .** A maior parte do dióxido de carbono produzido no metabolismo é hidratada e transportada como íon bicarbonato (veja a p. 9). Entretanto, algum CO_2 é carregado como carbamato, ligado a grupos amino N-terminais da hemoglobina (formando carbaminoemoglobina; veja a Figura 3.7), o que pode ser representado esquematicamente como:



A ligação do CO_2 estabiliza a forma T (tensa) ou desoxi da hemoglobina, resultando em um decréscimo de sua afinidade por oxigênio (veja a p. 28), e em um deslocamento para a direita na curva de dissociação do oxigênio. Nos pulmões, o CO_2 dissocia-se da hemoglobina, e é liberado pela respiração.

- 5. Ligação do CO.** O monóxido de carbono (CO) liga-se fortemente (mas reversivelmente) ao ferro da hemoglobina, formando carboxiemoglobina (HbCO). Quando o monóxido de carbono liga a um ou mais dos quatro grupos heme, a hemoglobina muda para a conformação relaxada, de modo que os grupos remanescentes ligam-se ao oxigênio com maior afinidade. Isso leva ao deslocamento da curva de saturação para a esquerda, mudando o formato sigmoidal normal da curva para o formato hiperbólico. Como resultado, a hemoglobina afetada é incapaz de liberar o oxigênio para os tecidos (Figura 3.12). (Nota: a afinidade da hemoglobina por CO é 220 vezes maior do que por oxigênio. Consequentemente, mesmo concentrações mínimas de mo-

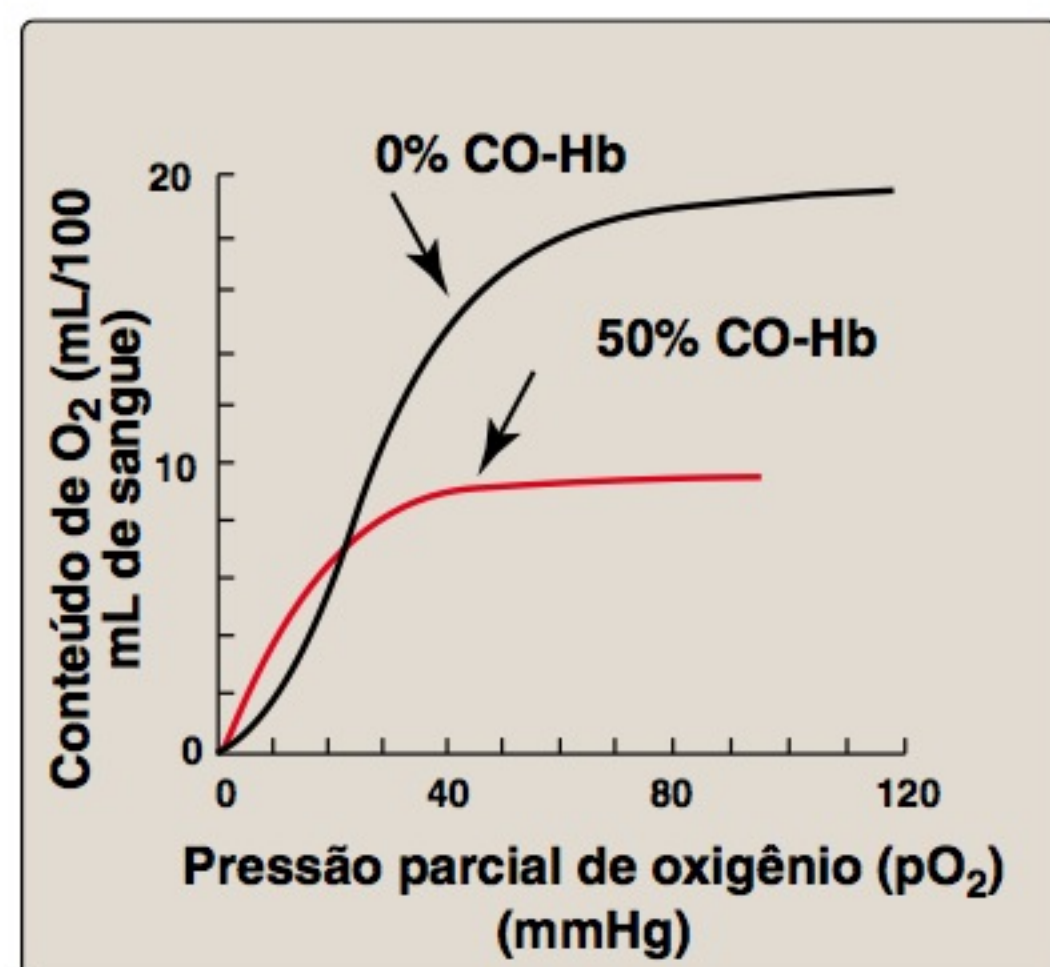


Figura 3.12

Efeito do monóxido de carbono sobre a afinidade da hemoglobina por oxigênio. CO-Hb = carboxiemoglobina.

nóxido de carbono no meio podem produzir concentrações tóxicas de carboxiemoglobina no sangue. Por exemplo, níveis aumentados de CO são encontrados no sangue de fumantes. A toxicidade do monóxido de carbono parece resultar da combinação de hipoxia tecidual e de dano celular direto mediado pelo monóxido de carbono.) O envenenamento por monóxido de carbono é tratado com terapia de 100% de oxigênio em alta pressão (terapia hiperbárica com oxigênio), que facilita a dissociação do CO da hemoglobina. (Nota: o CO inibe o Complexo IV da cadeia transportadora de elétrons [veja a p. 76].) Além do O_2 , do CO_2 e do CO, outro gás, o óxido nítrico (NO), também é carregado pela hemoglobina. O NO é um potente vasodilatador (veja a p. 151). Ele pode ser captado pelos eritrócitos ou deles liberado, modulando assim a disponibilidade de NO e influenciando o diâmetro dos vasos.

F. Hemoglobinas de menor ocorrência

É importante lembrar que a hemoglobina A humana (Hb A) é apenas um membro de uma família de proteínas funcional e estruturalmente relacionadas, as hemoglobinas (Figura 3.13). Cada uma dessas proteínas transportadoras de oxigênio é um tetrâmero, composto por dois polipeptídeos α -globina e dois polipeptídeos β -globina (ou semelhantes à β -globina). Algumas hemoglobinas, como a Hb F, normalmente são sintetizadas somente durante o desenvolvimento fetal, enquanto outras, como a Hb A₂, são sintetizadas no adulto, embora em baixos níveis, se comparados à Hb A. A Hb A pode também ser modificada pela adição covalente de uma hexose. Por exemplo, a adição de glicose forma um derivado glicosilado da hemoglobina, a Hb A_{1c}.

1. Hemoglobina fetal (Hb F). a Hb F é um tetrâmero, consistindo em duas cadeias α idênticas àquelas encontradas na Hb A, mais duas cadeias gama (γ) ($\alpha_2\gamma_2$, veja a Figura 3.13). As cadeias γ são membros da família de genes das β -globinas (veja a p. 35).

a. Síntese de Hb F durante o desenvolvimento. No primeiro mês após a concepção, hemoglobinas embrionárias, como a Hb Gower 1, composta por duas cadeias zeta (ζ) e duas cadeias épsilon (ϵ), estas últimas semelhantes às cadeias β , ou seja, $\zeta_2\epsilon_2$, são sintetizadas pelo saco embrionário. Na quinta semana de gestação, o sítio de síntese das globinas muda, primeiramente para o fígado e após para a medula óssea, e o principal produto é então a Hb F. A Hb F é a principal hemoglobina encontrada no feto e no recém-nascido, perfazendo cerca de 60% da hemoglobina total dos eritrócitos durante os últimos meses da vida fetal (Figura 3.14). A síntese da Hb A inicia na medula óssea por volta do oitavo mês de gestação e substitui gradualmente a Hb F. (A Figura 3.14 mostra a produção relativa de cada tipo de cadeia da hemoglobina durante a vida fetal e pós-natal.) (Nota: a Hb F representa menos de 1% da hemoglobina na maioria dos adultos, estando concentrada nos eritrócitos conhecidos como células F.)

b. Ligação do 2,3-BPG à Hb F. Em condições fisiológicas, a Hb F possui uma afinidade maior por oxigênio do que a Hb A, pois a Hb F liga-se apenas fracamente ao 2,3-BPG. (Nota: as cadeias γ -globina da Hb F não possuem alguns dos aminoácidos positivamente carregados responsáveis pela ligação ao 2,3-BPG encontrados nas cadeias de β -globina.) Uma vez que o 2,3-BPG serve para reduzir a afinidade da hemoglobina por oxigênio, a interação mais fraca entre 2,3-BPG e Hb F resulta em maior

Forma	Composição das cadeias	Fração da hemoglobina total
Hb A	$\alpha_2\beta_2$	90%
Hb F	$\alpha_2\gamma_2$	< 2%
Hb A ₂	$\alpha_2\delta_2$	2–5%
Hb A _{1c}	$\alpha_2\beta_2$ -glicose	3–9%

Figura 3.13

Hemoglobinas humanas normais de adultos. (Nota: as cadeias α nessas hemoglobinas são idênticas.)

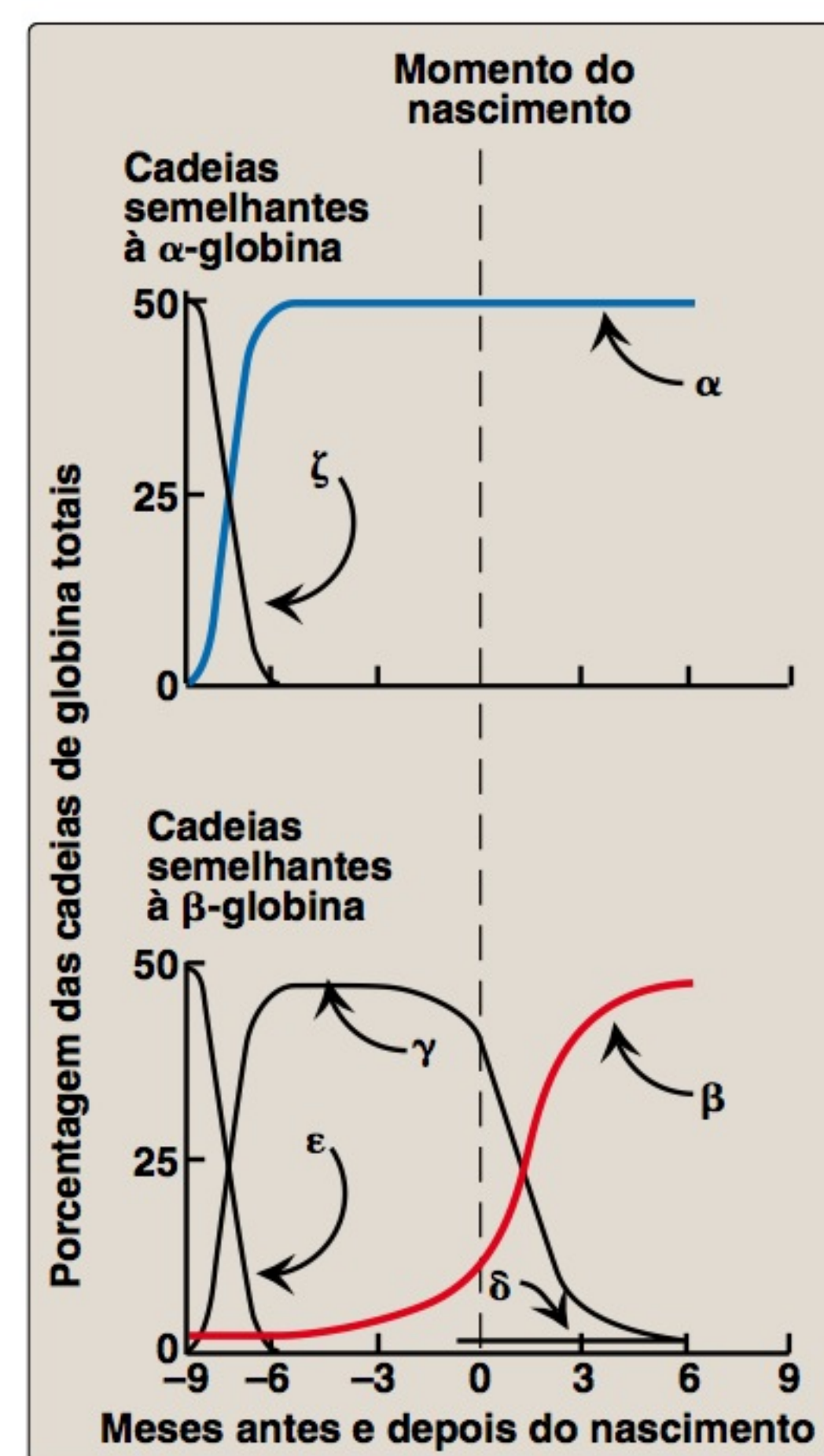
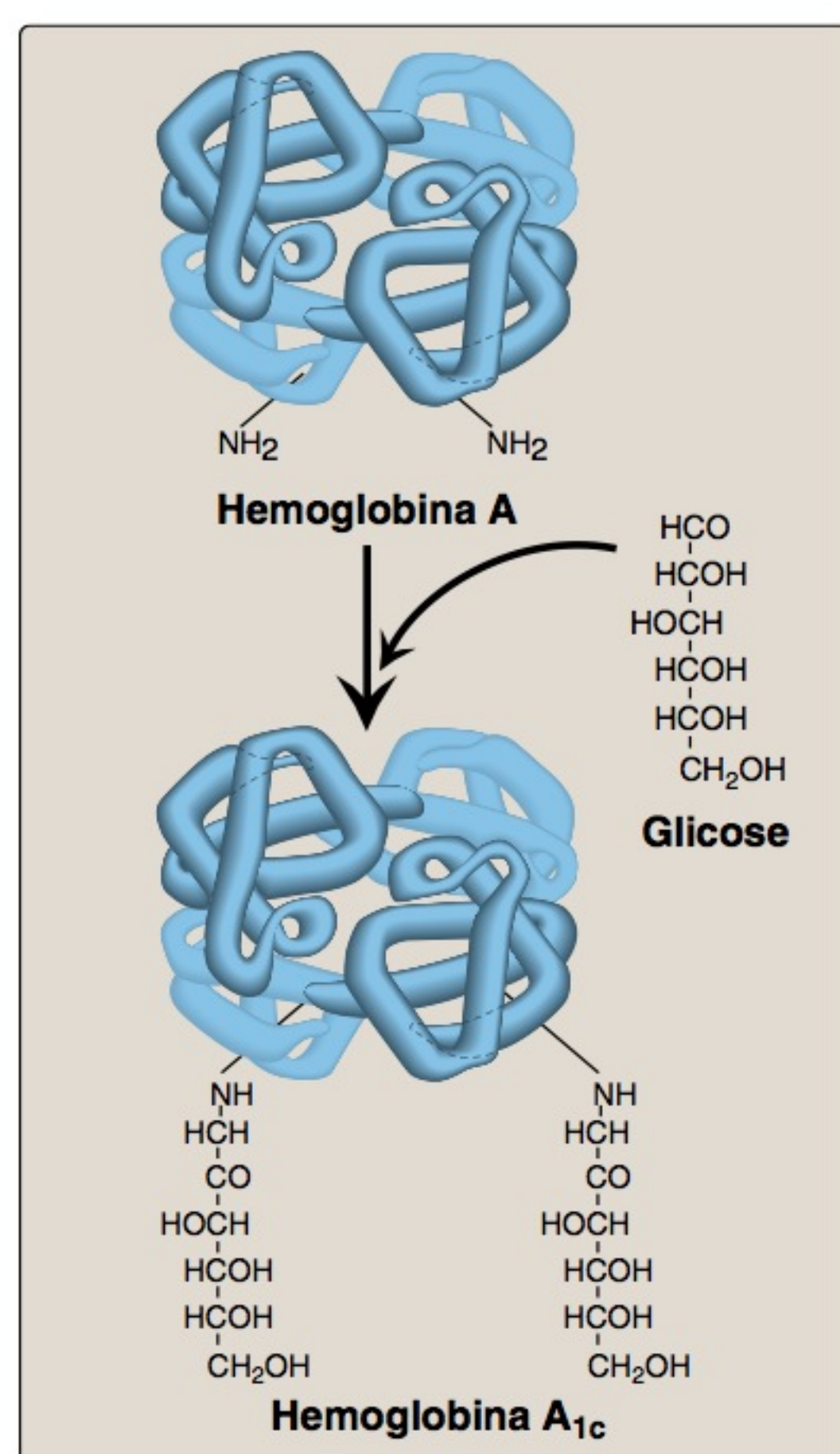


Figura 3.14

Alterações na hemoglobina durante o desenvolvimento.

**Figura 3.15**

Ação não enzimática de glicose à hemoglobina.

afinidade da Hb F por oxigênio, quando comparada com a Hb A. Em contraste, quando o 2,3-BPG é removido tanto da Hb A quanto da Hb F, elas apresentam então afinidade semelhante por oxigênio. A maior afinidade da Hb F por oxigênio facilita a transferência do oxigênio da circulação materna para os eritrócitos do feto através da placenta.

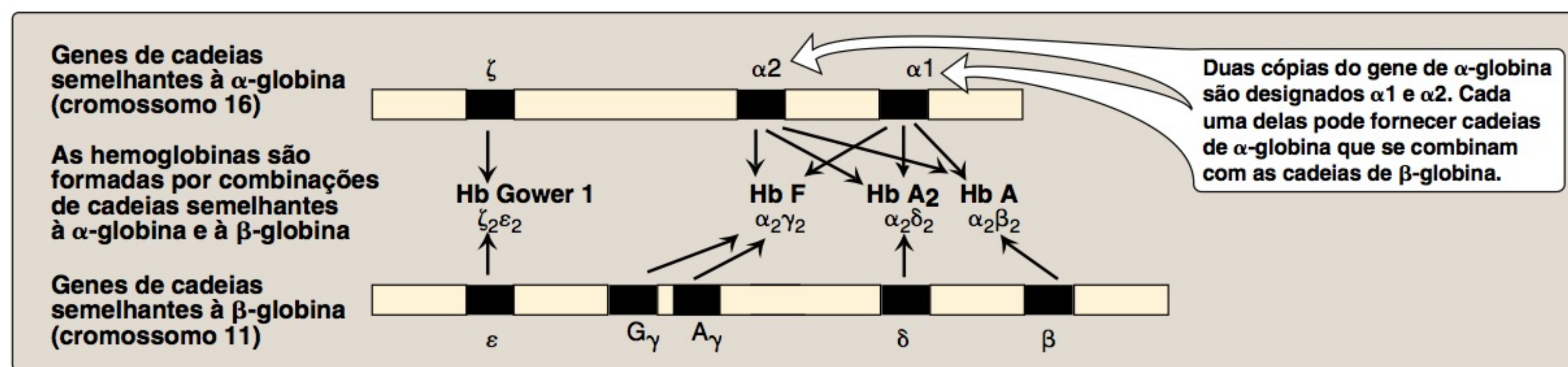
- Hemoglobina A₂ (Hb A₂).** A Hb A₂ é um componente menor da hemoglobina normal do adulto, surgindo inicialmente logo antes do nascimento e finalmente constituindo cerca de 2% da hemoglobina total. É composta por duas cadeias α -globina e duas cadeias δ -globina ($\alpha_2\delta_2$, veja a Figura 3.13).
- Hemoglobina A_{1c} (Hb A_{1c}).** Sob condições fisiológicas, de forma lenta e não enzimática, a Hb A é glicosilada (glicada); a amplitude da glicação depende da concentração plasmática de uma determinada hexose. A forma mais abundante de hemoglobina glicada é a Hb A_{1c}. Ela possui resíduos de glicose ligados predominantemente aos grupos NH₂ das valinas N-terminais das cadeias β -globina (Figura 3.15). Quantidades aumentadas de Hb A_{1c} são encontradas nos eritrócitos de pacientes com diabetes melito, pois a Hb A desses pacientes está em contato com concentrações maiores de glicose durante os 120 dias de vida de seus eritrócitos (veja a p. 340 para uma discussão acerca do uso desse fenômeno para a avaliação dos níveis sanguíneos médios de glicose em pacientes diabéticos).

III. ORGANIZAÇÃO DOS GENES DAS GLOBINAS

Para entender as doenças resultantes de modificações genéticas na estrutura ou síntese das hemoglobinas, é necessário compreender como os genes da hemoglobina, os quais direcionam a síntese das diferentes cadeias de globinas, são organizados estruturalmente em famílias de genes e também como eles são expressos.

A. A família dos genes- α

Os genes que codificam as subunidades do tipo α -globina e do tipo β -globina das cadeias da hemoglobina ocorrem em dois agrupamentos (ou famílias) de genes, localizados em dois cromossomos diferentes (Figura 3.16). O grupo de genes- α no cromossomo 16 contém dois genes para as cadeias de α -globina. Ele também contém o gene zeta (ζ), que é expresso precocemente no desenvolvimento como um componente da hemoglobina embrionária. (Nota: as famílias de genes das globinas também contêm genes semelhantes aos das globinas, que não são expres-

**Figura 3.16**

Organização das famílias de genes das globinas.

sos [isto é, sua informação genética não é usada para produzir cadeias de globina] e são denominados pseudogenes.)

B. A família dos genes- β

Um único gene para a cadeia de β -globina está localizado no cromossomo 11 (Figura 3.16). Existem ainda outros quatro genes semelhantes aos da β -globina: o gene épsilon (ϵ) (o qual, de modo semelhante ao gene ζ , é expresso no início do desenvolvimento embrionário), dois genes γ ($G\gamma$ e $A\gamma$, que são expressos na Hb F) e o gene δ , que codifica a cadeia de globina encontrada na hemoglobina que aparece minoritariamente em adultos, a HbA₂.

C. Etapas da síntese das cadeias das globinas

A expressão de um gene de globina inicia no núcleo de precursores dos eritrócitos, onde a sequência de DNA que codifica o gene é transcrita. O RNA produzido pela transcrição é, na verdade, um precursor do RNA mensageiro (RNAm), que é usado como um molde para a síntese de uma cadeia de globina. Antes de o RNA estar apto a cumprir essa função, dois segmentos de RNA não codificador (introns) devem ser removidos da sequência do RNAm precursor, e os três fragmentos restantes (éxons) devem ser ligados novamente de forma linear. O RNAm maduro resultante penetra no citosol, onde sua informação genética é traduzida, produzindo uma cadeia de globina. (Um resumo desse processo é mostrado na Figura 3.17. Uma descrição mais detalhada da síntese proteica é apresentada no Capítulo 31, p. 431.)

IV. HEMOGLOBINOPATIAS

As hemoglobinopatias têm sido tradicionalmente definidas como uma família de doenças genéticas causadas pela produção de uma molécula de hemoglobina estruturalmente anormal, pela síntese de quantidades insuficientes de hemoglobina normal ou, raramente, por ambas. A anemia falciforme (Hb S), a doença da hemoglobina C (Hb C), a doença da hemoglobina SC (Hb S + Hb C) e as síndromes da talassemia são hemoglobinopatias típicas, que podem ter consequências clínicas graves. As três primeiras condições resultam da produção de hemoglobinas com sequências alteradas de aminoácidos (hemoglobinopatia qualitativa), ao passo que as talassemias são devidas a uma produção diminuída de hemoglobina normal (hemoglobinopatia quantitativa).

A. Anemia falciforme (doença da hemoglobina S)

A anemia falciforme, a mais comum das doenças falciformes, é uma doença genética do sangue causada pela alteração de um único nucleotídeo (mutação pontual) no gene da cadeia de β -globina. É a doença hereditária do sangue mais comum nos Estados Unidos, afetando cerca de 80.000 norte-americanos. Ocorre principalmente na população afro-americana, afetando um em cada 500 recém-nascidos afro-americanos nos Estados Unidos. A anemia falciforme é uma doença homozigota recessiva. Ela ocorre em pessoas que herdaram dois genes mutantes (um de cada um dos pais) que codificam a síntese das cadeias β das moléculas de globina. (Nota: a cadeia β -globina mutante é designada β^S , e a hemoglobina resultante, $\alpha_2\beta^S_2$, é denominada Hb S.) A doença não se manifesta no bebê até que uma quantidade suficiente de Hb F seja substituída pela Hb S, quando os eritrócitos começam a assumir a morfologia falciforme (veja a seguir). A anemia falciforme caracteriza-se por episódios dolorosos (crises) que ocorrem durante toda a vida, por uma anemia hemolítica crônica com hiperbilirrubinemia associada (veja a p. 284) e pelo aumento da suscetibilidade a infecções, que começam, em geral, no início da infância. (Nota: a vida média de um eritrócito na

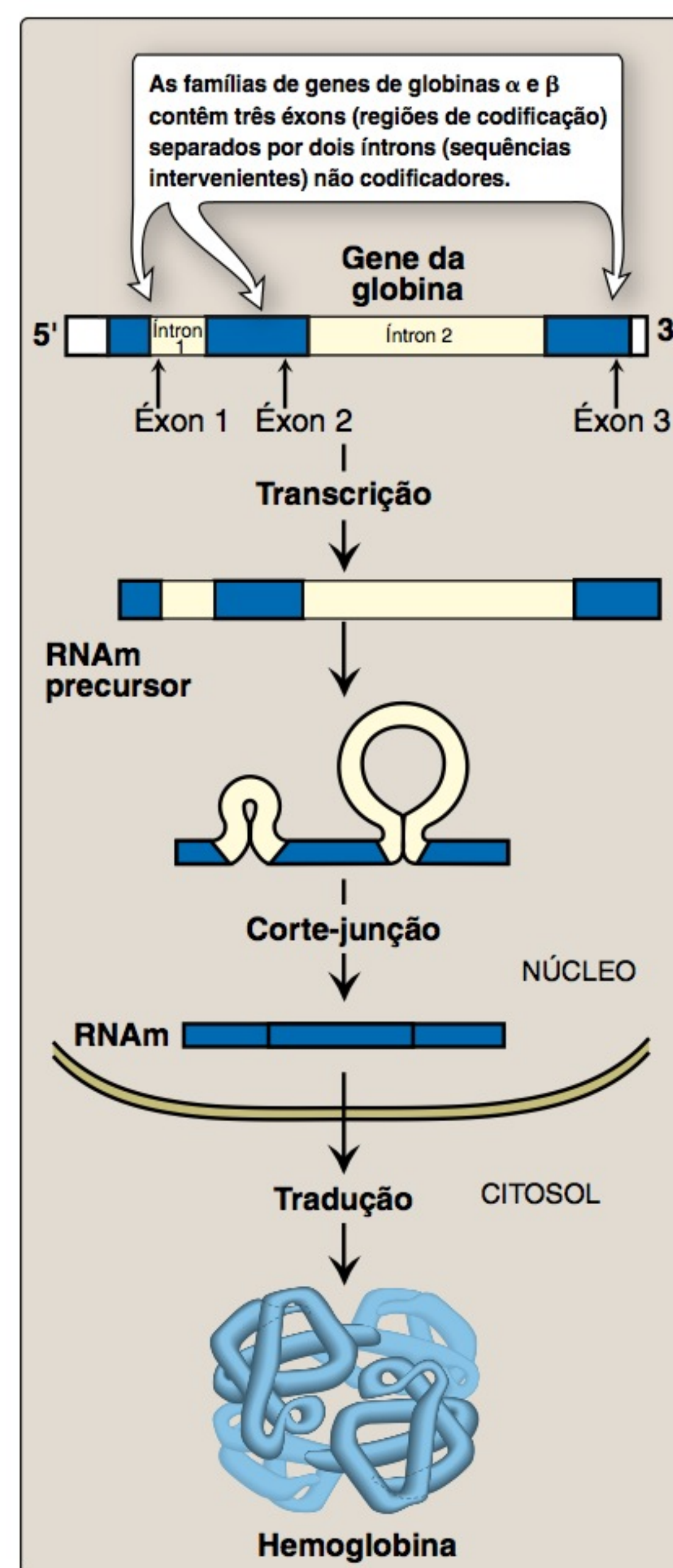
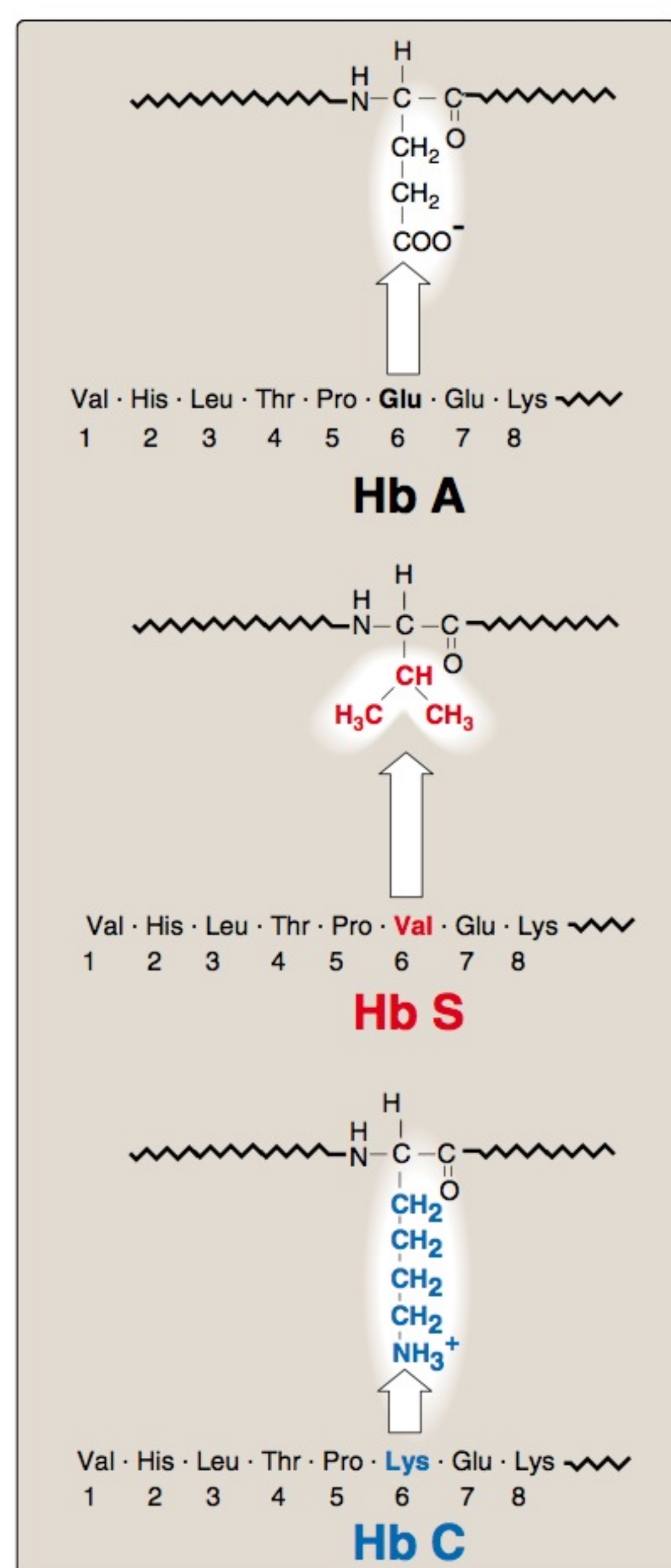


Figura 3.17

Síntese das cadeias de globinas.

**Figura 3.18**

Substituições de aminoácidos na HbS e na HbC.

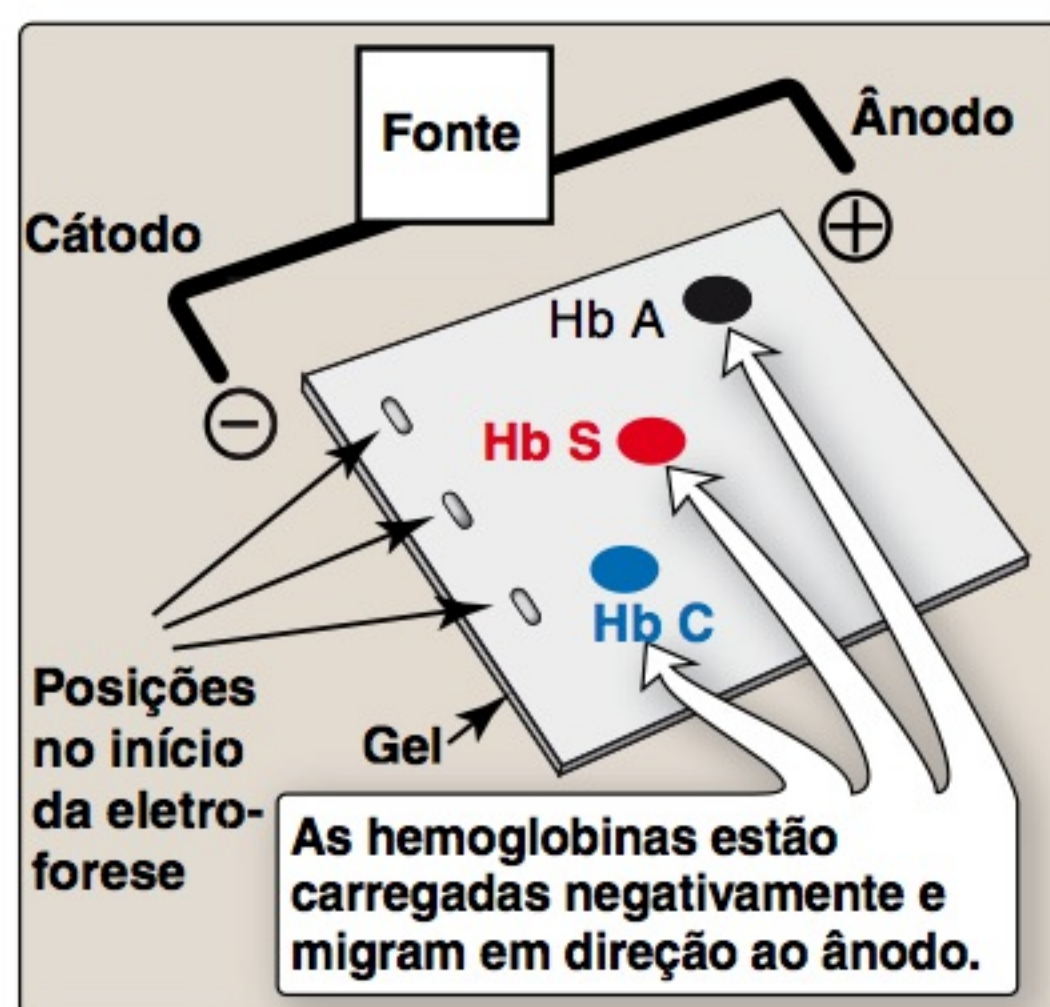
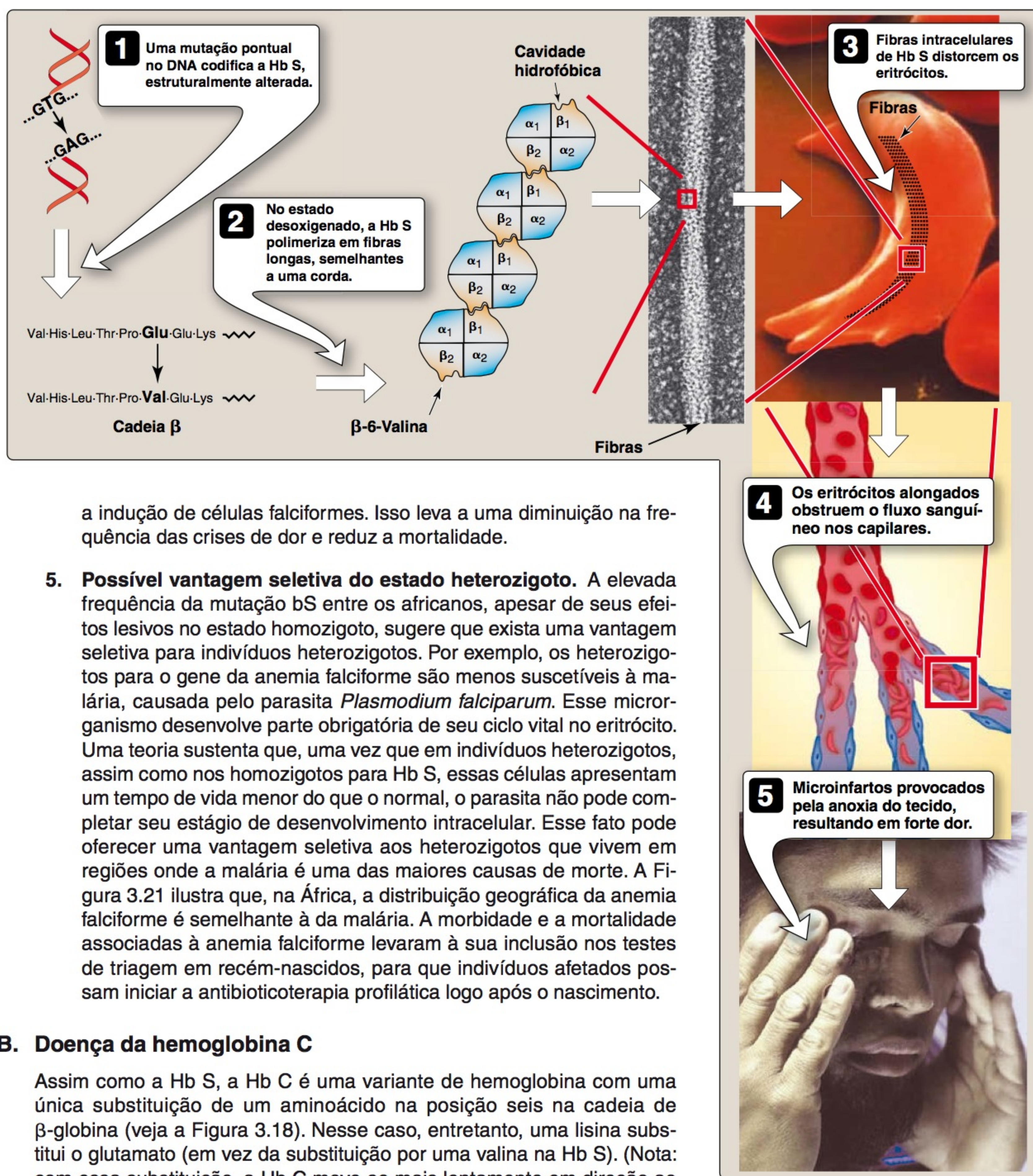
**Figura 3.19**

Diagrama das hemoglobinas A, S e C após eletroforese.

anemia falciforme é de cerca de 20 dias, comparada com os 120 dias para eritrócitos normais; daí a anemia.) Outros sintomas incluem síndrome aguda do peito, acidentes vasculares cerebrais (AVC), disfunção esplênica e renal e alterações ósseas devido à hiperplasia medular. Os heterozigotos, representando um em cada doze afro-americanos, possuem um gene normal e um gene falciforme. Os eritrócitos desses heterozigotos contêm tanto Hb S como Hb A. Esses indivíduos possuem o traço falciforme. Em geral, eles não apresentam sintomas clínicos e podem ter uma expectativa de vida normal.

- 1. Substituição de aminoácidos nas cadeias β da HbS.** Uma molécula de Hb S contém duas cadeias de α -globina normais e duas cadeias de β -globina mutantes (β^S), nas quais o ácido glutâmico da posição 6 é substituído pela valina (Figura 3.18). Assim sendo, durante uma eletroforese em pH alcalino, a Hb S migra mais lentamente em direção ao ânodo (eletrodo positivo) do que a Hb A (Figura 3.19). Essa alteração na mobilidade da Hb S é o resultado da ausência dos resíduos de glutamato negativamente carregados nas duas cadeias β , tornando assim a Hb S menos negativa que a Hb A. (Nota: a eletroforese da hemoglobina obtida a partir de eritrócitos lisados é utilizada rotineiramente no diagnóstico da doença e do traço falciforme.)
- 2. Alterações falciformes e anoxia tecidual.** A substituição de um resíduo de glutamato carregado por uma valina apolar forma uma saliência na cadeia β -globina, a qual se associa de forma complementar com a cadeia β de outra molécula de hemoglobina na célula (Figura 3.20). Em condições de baixa pressão de oxigênio, a desoxiemoglobina S polimeriza dentro dos eritrócitos, formando uma rede de polímeros fibrosos que distorce as células, produzindo eritrócitos rígidos e deformados. Essas células falciformes frequentemente bloqueiam o fluxo sanguíneo nos capilares de pequeno diâmetro. Essa interrupção no suprimento de oxigênio leva à anoxia localizada (privação de oxigênio) no tecido, causando dor e, eventualmente, a morte (infarto) das células na vizinhança da área do bloqueio. A anoxia também leva a um aumento na Hb S desoxigenada. (Nota: o diâmetro médio dos eritrócitos é 7,5 μm , enquanto o da microvasculatura é de 3 a 4 μm . Em vez de abrir caminho pela microvasculatura, como fazem os eritrócitos que contêm Hb A, as células falciformes têm menor capacidade de se deformar e uma maior tendência de aderir às paredes dos vasos; assim, esses eritrócitos têm dificuldade para se mover através dos pequenos vasos.)

- 3. Variáveis que aumentam a indução de células falciformes.** A extensão dessa morfologia anormal e, portanto, da gravidade da doença é aumentada por qualquer variável que aumente a proporção de Hb S no estado desoxigenado (i.e., que reduza a afinidade da Hb S por oxigênio). Essas variáveis incluem a diminuição da pressão de oxigênio em decorrência de altitudes elevadas ou de voo em avião não pressurizado, aumento na $p\text{CO}_2$, diminuição do pH, desidratação e aumento da concentração de 2,3-BPG nos eritrócitos.
- 4. Tratamento.** O tratamento envolve adequada hidratação, analgésicos, antibioticoterapia agressiva em caso de infecção e transfusões em pacientes que apresentem alto risco de oclusão fatal de vasos. Transfusões intermitentes com concentrados de eritrócitos reduzem o risco de AVCs, mas os benefícios devem ser bem avaliados devido às complicações que podem ocorrer, as quais incluem sobrecarga de ferro (hemossiderose), infecções sanguíneas e complicações imunológicas. A hidroxiureia, uma droga antitumoral, é terapêuticamente útil, pois aumenta os níveis circulantes de Hb F, o que diminui



a indução de células falciformes. Isso leva a uma diminuição na frequência das crises de dor e reduz a mortalidade.

- 5. Possível vantagem seletiva do estado heterozigoto.** A elevada frequência da mutação bS entre os africanos, apesar de seus efeitos lesivos no estado homozigoto, sugere que exista uma vantagem seletiva para indivíduos heterozigotos. Por exemplo, os heterozigotos para o gene da anemia falciforme são menos suscetíveis   malária, causada pelo parasita *Plasmodium falciparum*. Esse microrganismo desenvolve parte obrigatória de seu ciclo vital no eritrócito. Uma teoria sustenta que, uma vez que em indivíduos heterozigotos, assim como nos homozigotos para Hb S, essas células apresentam um tempo de vida menor do que o normal, o parasita não pode completar seu estágio de desenvolvimento intracelular. Esse fato pode oferecer uma vantagem seletiva aos heterozigotos que vivem em regiões onde a malária é uma das maiores causas de morte. A Figura 3.21 ilustra que, na África, a distribuição geográfica da anemia falciforme é semelhante   da malária. A morbidade e a mortalidade associadas à anemia falciforme levaram à sua inclusão nos testes de triagem em recém-nascidos, para que indivíduos afetados possam iniciar a antibioticoterapia profilática logo após o nascimento.

B. Doença da hemoglobina C

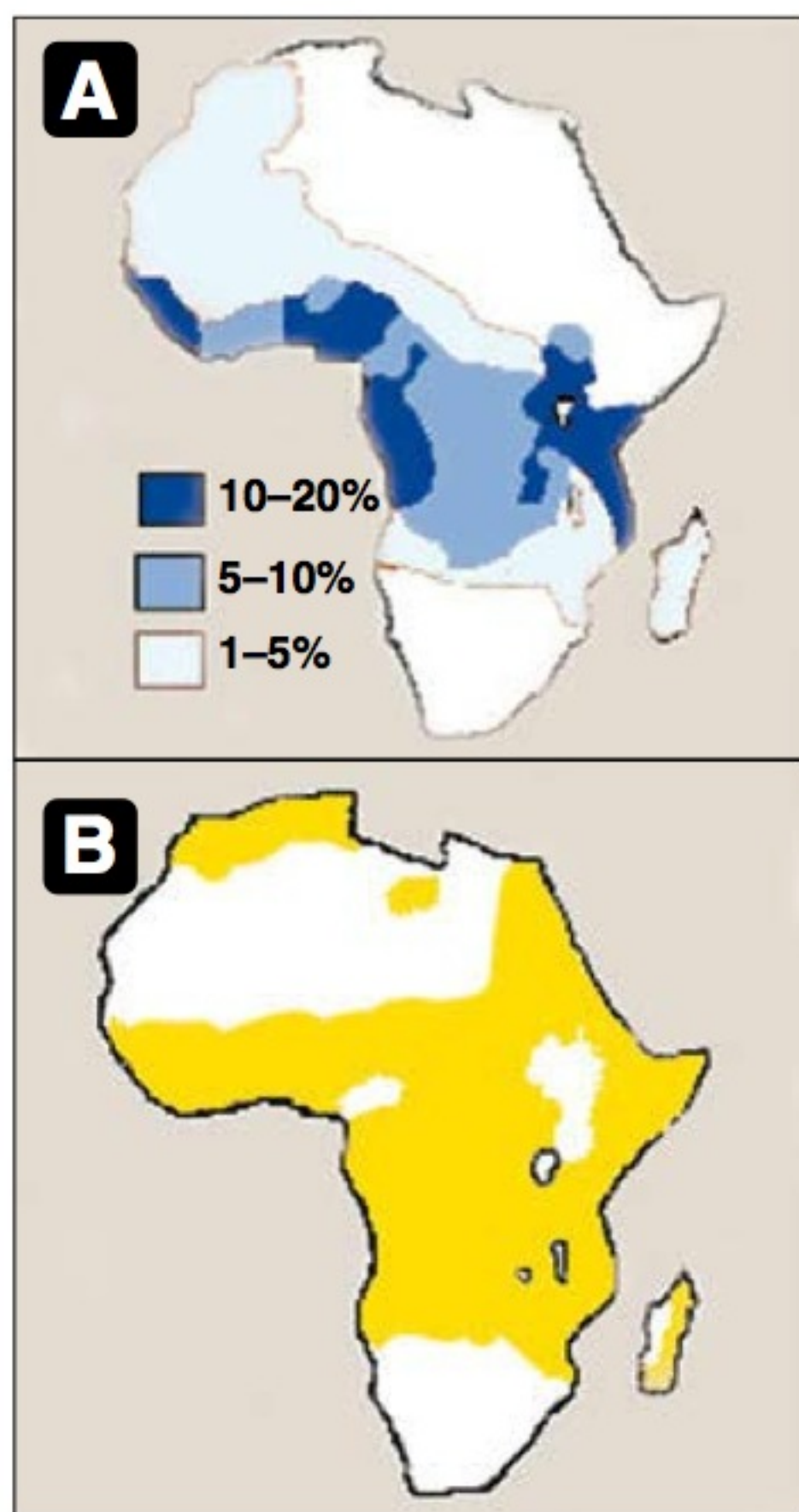
Assim como a Hb S, a Hb C   uma variante de hemoglobina com uma única substituição de um aminoácido na posição seis na cadeia de β -globina (veja a Figura 3.18). Nesse caso, entretanto, uma lisina substitui o glutamato (em vez da substituição por uma valina na Hb S). (Nota: com essa substituição, a Hb C move-se mais lentamente em direção ao ânodo do que a Hb A ou a Hb S [Figura 3.19].) Os pacientes homozigotos para a hemoglobina C geralmente apresentam anemia hemolítica crônica, relativamente leve. Esses pacientes não sofrem crises de infarto e não necessitam de qualquer terapia específica.

C. Doença da hemoglobina SC

A doença da hemoglobina SC   outra das doenças falciformes. Nessa doença, algumas cadeias de β -globina possuem a mutação falciforme, enquanto outras cadeias β possuem a mutação encontrada na doença

Figura 3.20

Eventos celulares e moleculares que levam a uma crise falciforme.

**Figura 3.21**

A. Distribuição da anemia falciforme na África, expressa como porcentagem da população com a doença. B. Distribuição da malária na África.

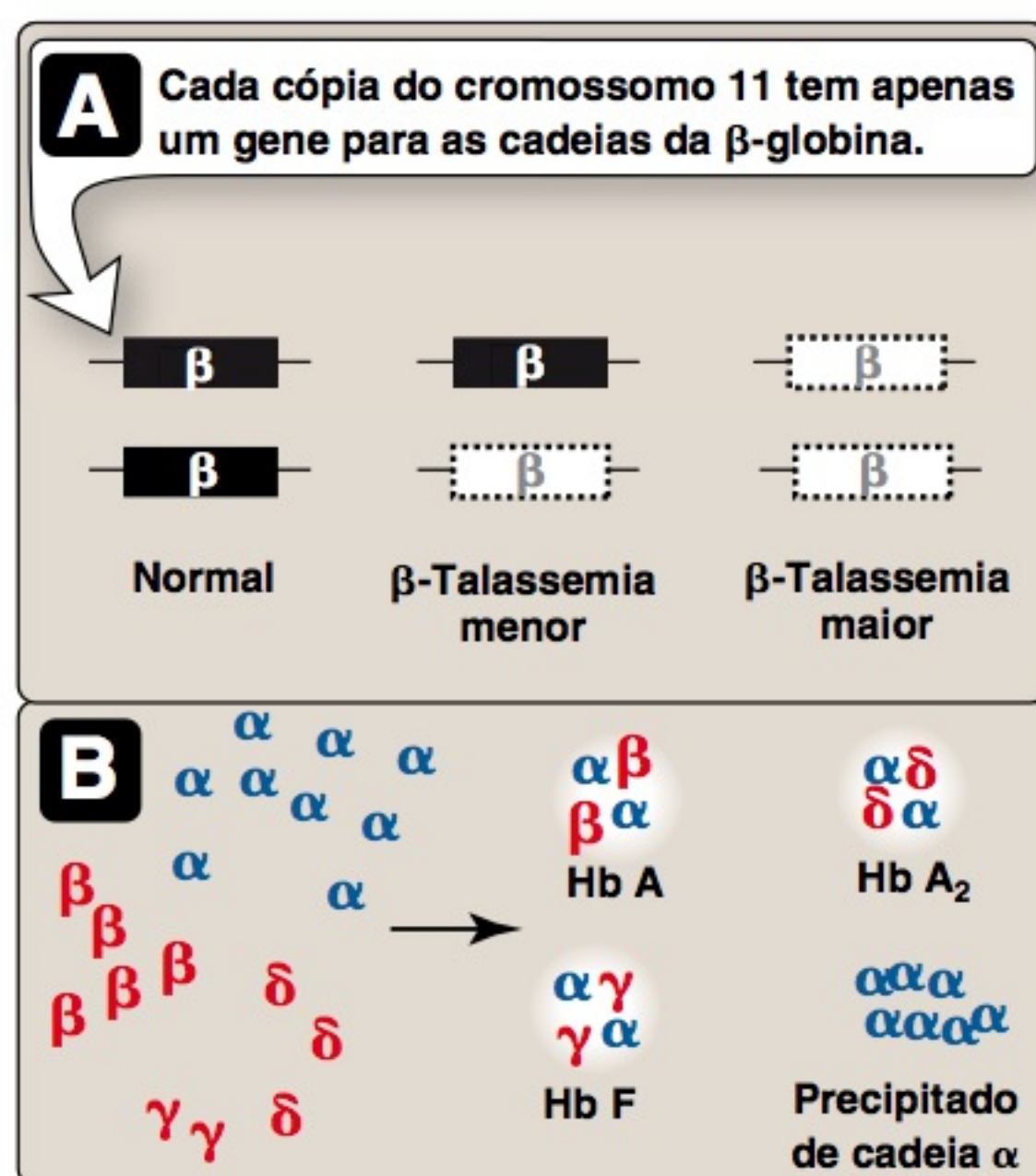
da Hb C. (Nota: pacientes com a doença Hb SC são duplamente heterozigotos [heterozigotos compostos], pois ambos os genes para a cadeia β são anormais, embora diferentes um do outro.) Os níveis de hemoglobina tendem a ser mais altos na Hb SC do que na anemia falciforme, podendo estar no limite inferior da faixa normal. O curso clínico de adultos com a anemia Hb SC difere daquele da anemia falciforme, pois os sintomas, como as crises dolorosas, são menos frequentes e menos graves. Existe, no entanto, considerável variabilidade clínica.

D. Metemoglobinemias

A oxidação do grupo heme da hemoglobina ao estado de íon férrico (Fe^{3+}) forma a metemoglobina, que não pode ligar-se ao oxigênio. Essa oxidação pode ser causada pela ação de certas drogas, como os nitratos, ou por produtos endógenos, como intermediários reativos do oxigênio (veja a p. 148). A oxidação pode também ser resultado de problemas genéticos; por exemplo, certas mutações nas cadeias de globinas α ou β promovem a formação de metemoglobina (Hb M). Além disso, uma deficiência na NADH-citocromo b5-redutase (também chamada de NADH-metemoglobina-redutase), a enzima responsável pela conversão da metemoglobina (Fe^{3+}) em hemoglobina (Fe^{2+}), leva ao acúmulo de metemoglobina. (Nota: os eritrócitos de recém-nascidos apresentam aproximadamente metade da capacidade dos adultos em reduzir a metemoglobina. Assim sendo, são especialmente suscetíveis aos efeitos dos compostos capazes de produzir metemoglobina.) As metemoglobinemias são caracterizadas por “cianose chocolate” (uma coloração marrom-azulada da pele e das membranas de mucosas) e sangue cor de chocolate, como resultado da coloração escura da metemoglobina. Os sintomas estão relacionados com hipoxia tecidual, e incluem ansiedade, dor de cabeça e dispneia. Em casos raros, podem ocorrer coma e morte. O tratamento usa azul de metileno, o qual se oxida ao reduzir o Fe^{+3} .

E. Talassemias

As talassemias são doenças hemolíticas hereditárias, nas quais ocorre um desequilíbrio na síntese das cadeias de globina. Como um grupo, são os distúrbios mais comuns de um único gene em humanos. Normalmente, a síntese das cadeias de globinas α e β é coordenada de modo que cada cadeia α tenha uma cadeia β correspondente. Isso leva à formação de $\alpha_2\beta_2$ (Hb A). Nas talassemias, a síntese da cadeia α ou da β é defeituosa. Uma talassemia pode ser causada por uma série de mutações, incluindo deleções de todo o gene, ou ainda substituições ou deleções de um ou vários nucleotídeos no DNA. (Nota: cada talassemia pode ser classificada como um distúrbio em que não são produzidas cadeias de globinas [talassemia α^0 ou β^0], ou como um distúrbio em que algumas cadeias são sintetizadas, porém em níveis reduzidos [talassemia α^+ ou β^+].)

**Figura 3.22**

A. Mutações no gene da β -globina nas β -talassemias. B. Tetrâmeros de hemoglobina formados nas β -talassemias.

1. **β -Talassemias.** Nessas doenças, a síntese das cadeias β está diminuída ou ausente, tipicamente como resultado de mutações pontuais que afetam a produção de RNAm funcional; entretanto, a síntese das cadeias α está normal. As cadeias de α -globina não podem formar tetrâmeros estáveis e, assim, precipitam, causando a morte prematura das células inicialmente destinadas a tornarem-se eritrócitos maduros. Também ocorre o acúmulo de $\alpha_2\gamma_2$ (Hb F) e $\alpha_2\delta_2$ (Hb A₂). Existem apenas duas cópias do gene da β -globina em cada célula (uma em cada cromossomo 11). Assim sendo, indivíduos com defeitos no gene da cadeia β apresentam o traço de β -talassemia (β -talassemia menor) se tiverem apenas um dos genes defeituoso, ou β -talassemia maior (anemia de Cooley) se ambos os genes para a cadeia de β -globina forem defeituosos (Figura 3.22). Uma vez que o gene da β -globina somente é expresso no final da gestação, as manifestações físicas

das β -talassemias só aparecem diversos meses após o nascimento. Os indivíduos com β -talassemia menor produzem algumas cadeias β e geralmente não necessitam de tratamento específico. Entretanto, os bebês que nascem com β -talassemia maior parecem saudáveis ao nascimento, tornando-se gravemente anêmicos, em geral durante o primeiro ou segundo ano de vida, devido à eritropoiese ineficiente. Também são observadas alterações esqueléticas, em função de eritropoiese extramedular. Esses pacientes requerem transfusões de sangue regulares. (Nota: apesar desse tratamento salvar vidas, o efeito cumulativo das transfusões é uma sobrecarga de ferro [uma síndrome conhecida como hemossiderose]. A utilização de terapia com quelantes de ferro tem reduzido a morbidade e a mortalidade.) O aumento do uso da terapia de reposição de células de medula óssea tem sido um grande avanço para esses pacientes.

2. **α -Talassemias.** Esses são defeitos nos quais a síntese das cadeias de α -globina está diminuída ou ausente, tipicamente como resultado de mutações por deleção. Uma vez que o genoma de cada indivíduo contém quatro cópias do gene de α -globina (dois em cada cromossomo 16), existem muitos níveis de deficiência de cadeias α (Figura 3.23). Se um dos quatro genes é defeituoso, o indivíduo é chamado de portador silencioso de α -talassemia, pois não apresenta qualquer das manifestações físicas da doença. Se dois genes da α -globina são defeituosos, o indivíduo é denominado como possuidor do traço de α -talassemia. Se três genes da cadeia α estão defeituosos, o indivíduo tem a doença da hemoglobina H (Hb H, β_4), uma anemia hemolítica leve a moderadamente grave. Se todos os quatro genes de α -globina são defeituosos, isso resulta na doença da Hb de Bart (γ_4), com hidropisia fetal e morte do feto, pois as cadeias α são necessárias para a síntese de Hb F. (Nota: hemoglobinopatias que incorrem em aumento da afinidade pelo O_2 são tipicamente caracterizadas pelo aumento na produção de eritrócitos, enquanto aquelas que resultam em redução na afinidade pelo O_2 são caracterizadas pela anemia.)

V. RESUMO DO CAPÍTULO

A **hemoglobina A**, a principal hemoglobina de adultos, é composta de quatro cadeias polipeptídicas (duas cadeias α e duas β , $\alpha_2\beta_2$), unidas por interações não covalentes (Figura 3.24). As subunidades ocupam posições relativas diferentes na desoxiemoglobina, se comparadas com a oxiemoglobina. A forma **desoxi** da hemoglobina é chamada de “**T**” ou **forma tensa**. Ela apresenta restrições estruturais que limitam o movimento das cadeias polipeptídicas. A forma T é a forma da hemoglobina de **baixa afinidade por oxigênio**. A ligação do oxigênio à hemoglobina causa a ruptura de algumas ligações iônicas e ligações de hidrogênio. Isso leva a uma estrutura chamada “**R**” ou **forma relaxada**, na qual as cadeias polipeptídicas possuem maior liberdade de movimento. A forma R é a forma de **alta afinidade por oxigênio** da hemoglobina. A **curva de dissociação do oxigênio** da hemoglobina tem forma **sigmoidal** (em contraste com a da **mioglobina**, que é **hiperbólica**), indicando que as subunidades ligam-se ao oxigênio de forma cooperativa. A **ligação cooperativa** do oxigênio pelas quatro subunidades da hemoglobina significa que a ligação de uma molécula de oxigênio a um dos grupos heme aumenta a afinidade por oxigênio dos grupos heme remanescentes na mesma molécula de hemoglobina. A **capacidade de ligar reversivelmente o oxigênio** da hemoglobina é afetada pela pO_2 (por

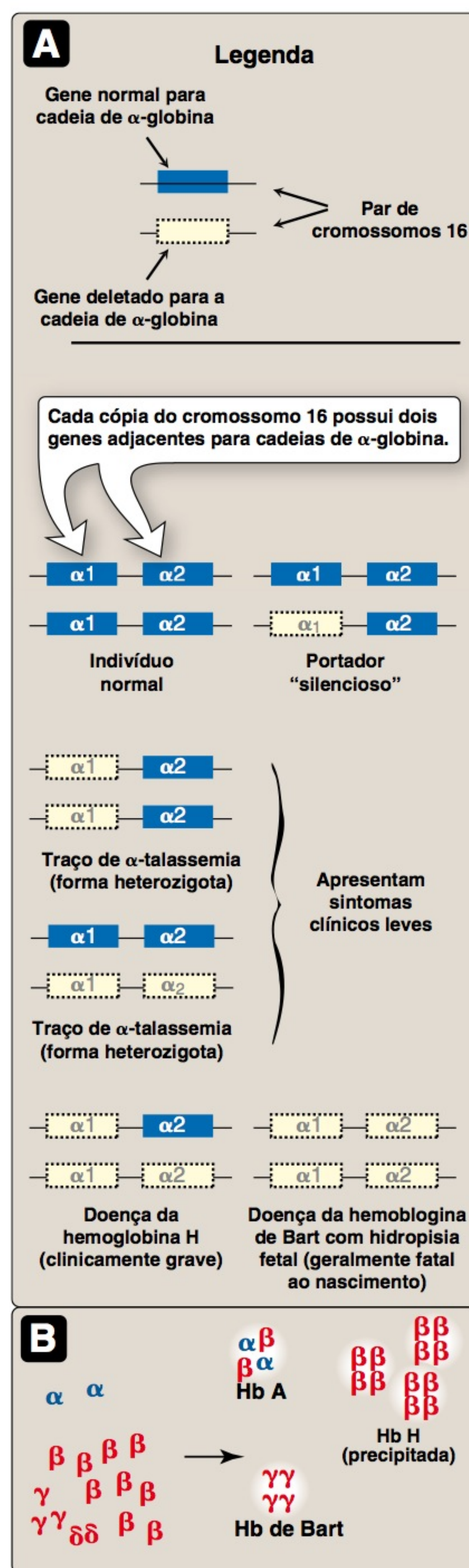


Figura 3.23

A. Deleções do gene de α -globina nas α -talassemias. B. Tetrâmeros de hemoglobina, formados nas α -talassemias.

meio de interações heme-heme), pelo pH do meio, pela $p\text{CO}_2$ e pela disponibilidade de **2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG)**. Por exemplo, a liberação do O_2 pela Hb é aumentada quando o pH diminui ou quando a $p\text{CO}_2$ aumenta (**efeito Bohr**), como acontece em um **músculo em exercício**, e a curva de dissociação do oxigênio é deslocada para a direita. Para contrabalançar os efeitos de **hipoxia ou anemia crônicas**, a concentração de **2,3-BPG** nos **eritrócitos** aumenta. O **2,3-BPG** liga-se à Hb e diminui sua afinidade por oxigênio, dessa forma também deslocando a curva de dissociação do oxigênio para a direita. O **monóxido de carbono (CO)** liga-se fortemente (porém reversivelmente) ao ferro da hemoglobina, formando **carboxiemoglobina, HbCO**. As **hemoglobinopatias** são doenças causadas pela produção de moléculas de **hemoglobina estruturalmente anormais**, pela síntese de **quantidade insuficiente** de subunidades de hemoglobina normal ou, raramente, por ambas (Figura 3.25). A **anemia falciforme** (doença Hb S) e a **doença da hemoglobina SC**, assim como a **doença da hemoglobina C** e as **síndromes de talassemias** são hemoglobinopatias típicas, que podem apresentar consequências clínicas graves.

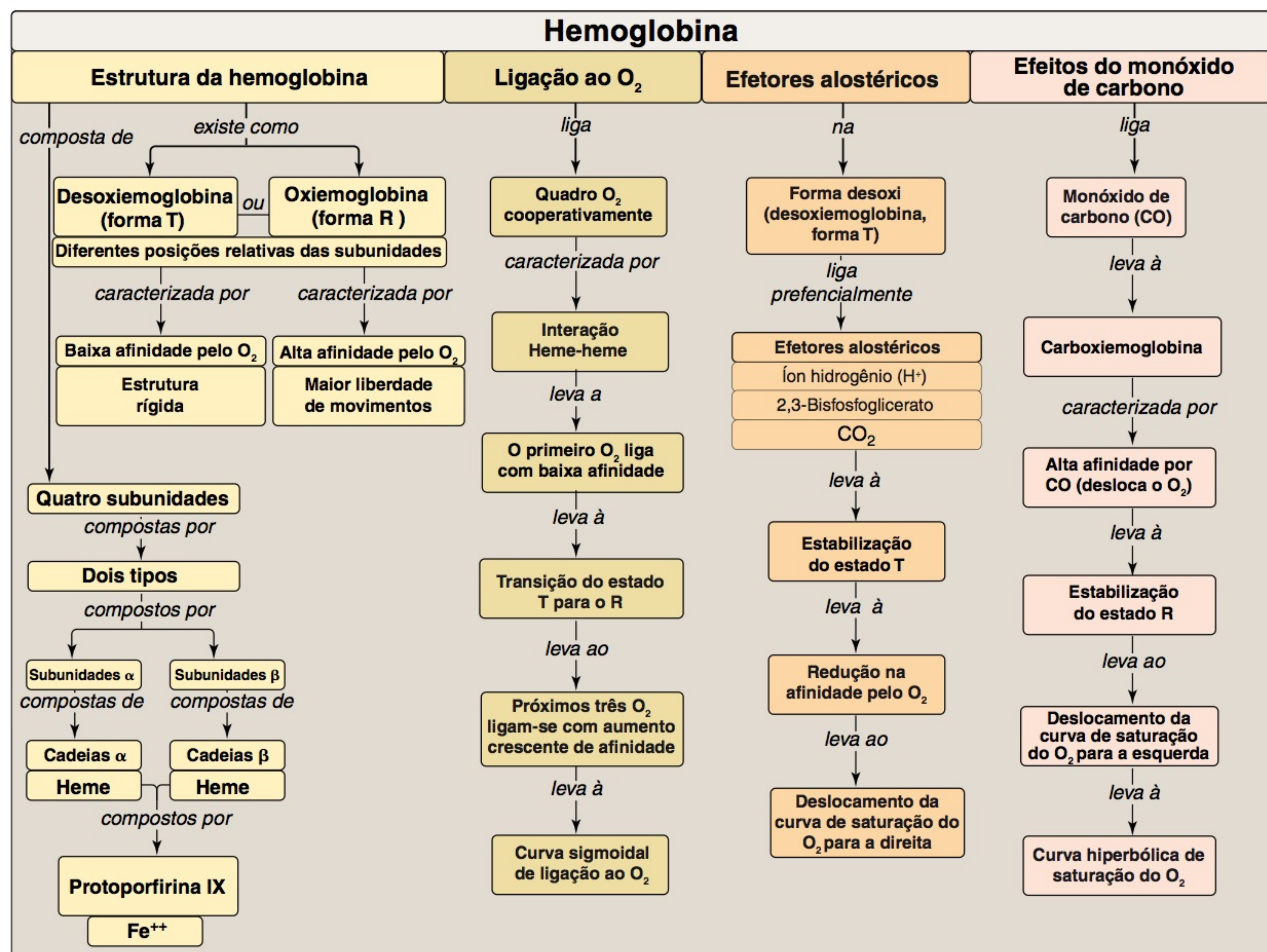


Figura 3.24

Mapa de conceitos-chave para a estrutura e a função da hemoglobina.

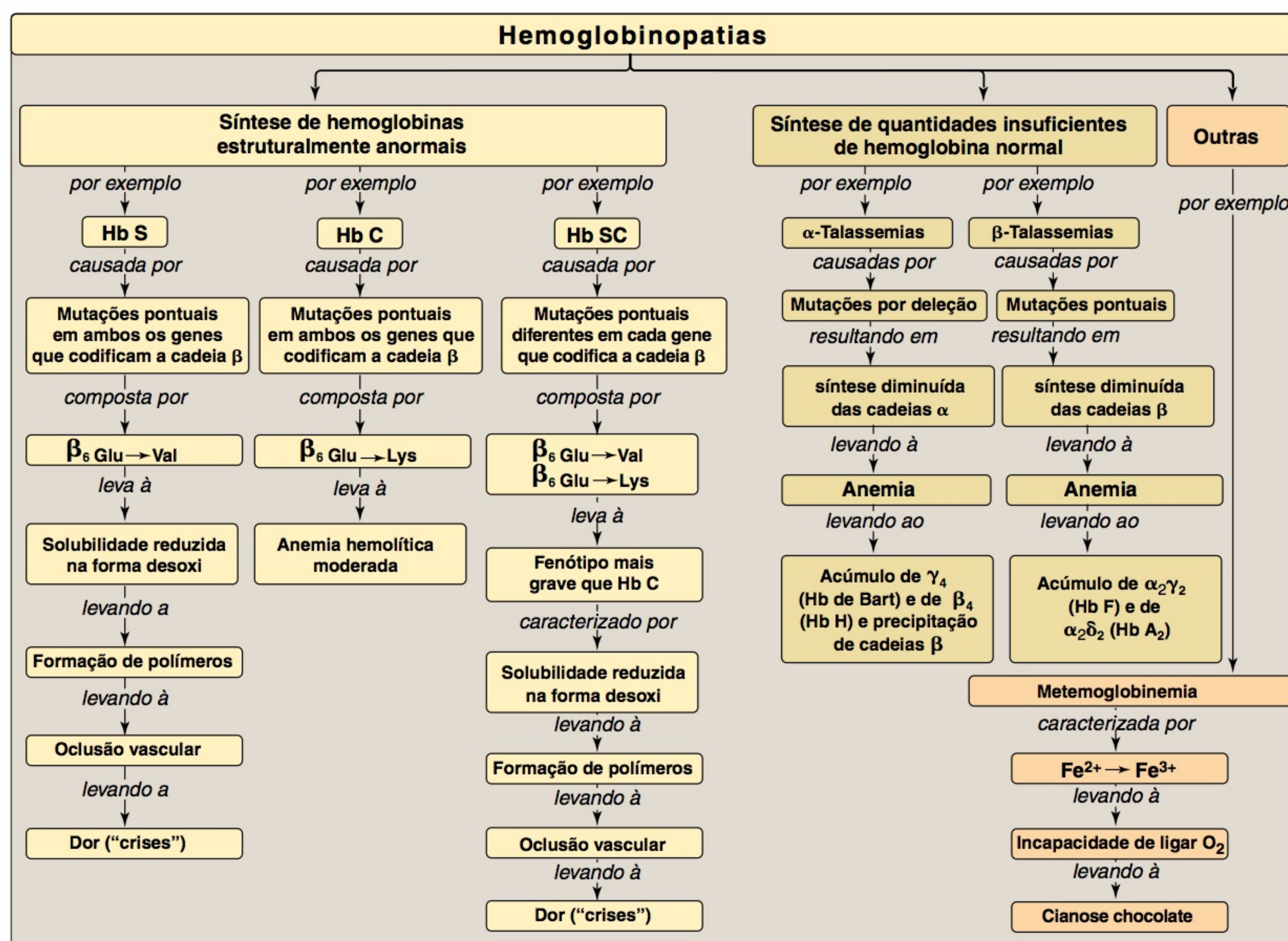


Figura 3.25

Mapa de conceitos-chave para hemoglobinopatias.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 3.1 Qual das afirmações a seguir sobre as hemoglobinas está correta?
- O sangue fetal apresenta maior afinidade por oxigênio do que o sangue de adulto, pois a Hb F tem a afinidade diminuída pelo 2,3-BPG.
 - A Hb F purificada (livre de 2,3-BPG) apresenta maior afinidade por oxigênio do que a Hb A purificada.
 - A composição de cadeias de globina para a Hb F é $\alpha_2\delta_2$.
 - A Hb A_{1C} difere da Hb A por uma única substituição de aminoácido, determinada geneticamente.
 - A Hb A₂ aparece precocemente na vida fetal.

Resposta correta = A. Uma vez que o 2,3-BPG reduz a afinidade da hemoglobina por oxigênio, a interação mais fraca entre o 2,3-BPG e a Hb F resulta na maior afinidade da Hb F por oxigênio, em relação à Hb A. Em contraste, se o 2,3-BPG for removido de ambas, Hb A e Hb F, elas terão uma afinidade similar por oxigênio. A Hb F consiste de $\alpha_2\gamma_2$. A Hb A_{1C} é uma forma glicada da Hb A, formada não enzimaticamente nos eritrócitos. A Hb A₂ é um componente menor da hemoglobina normal do adulto, aparecendo inicialmente logo após o nascimento e aumentando até atingir os níveis encontrados nos adultos (cerca de 2% do total da hemoglobina) ao redor dos 6 meses de idade.

Questões para estudo (continuação)

3.2 Qual das seguintes afirmações sobre a capacidade da acidose em induzir uma crise na anemia falciforme está correta?

- A. A acidose diminui a solubilidade da Hb S.
- B. A acidose aumenta a afinidade da hemoglobina por oxigênio.
- C. A acidose favorece a conversão da hemoglobina da forma tensa para a forma relaxada.
- D. A acidose desloca a curva de dissociação do oxigênio para a esquerda.
- E. A acidose diminui a capacidade do 2,3-BPG de ligar-se à hemoglobina.

Resposta correta = A. A Hb S é significativamente menos solúvel na forma desoxigenada, comparada à oxiemoglobina S. Uma diminuição do pH (acidose) desloca a curva de dissociação do oxigênio para a direita, indicando menor afinidade por oxigênio. Isso favorece a formação da hemoglobina na forma desoxi, ou tensa, podendo desencadear uma crise falciforme. A ligação do 2,3-BPG é aumentada, pois ele liga-se apenas à forma desoxi das hemoglobinas.

3.3 Qual das afirmações a seguir está correta a respeito da ligação do oxigênio à hemoglobina?

- A. O efeito Bohr resulta em uma menor afinidade por oxigênio em valores altos de pH.
- B. O dióxido de carbono aumenta a afinidade da hemoglobina por oxigênio ao ligar-se aos grupos carboxila-terminais das cadeias polipeptídicas.
- C. A afinidade da hemoglobina por oxigênio aumenta à medida que a porcentagem de saturação aumenta.
- D. O tetrâmero de hemoglobina liga quatro moléculas de 2,3-BPG.
- E. A oxiemoglobina e a desoxiemoglobina apresentam a mesma afinidade por prótons (H^+).

Resposta correta = C. A ligação do oxigênio a um dos grupos heme aumenta a afinidade por oxigênio dos grupos heme remanescentes na mesma molécula. O dióxido de carbono diminui a afinidade por oxigênio, porque diminui o pH; além disso, a ligação do dióxido de carbono aos terminais amino estabiliza a forma tensa ou desoxi. A hemoglobina liga uma molécula de 2,3-BPG. A desoxiemoglobina apresenta maior afinidade por prótons e, assim sendo, é um ácido mais fraco.

3.4 A β -lisina 82 na hemoglobina A é importante para a ligação do 2,3-BPG. Na Hb Helsinki, este aminoácido é substituído por uma metionina. Qual das seguintes alternativas a respeito da Hb Helsinki deve ser verdadeira?

- A. Ela é estabilizada na forma T e não na forma R.
- B. Ela deve apresentar aumento na afinidade por O_2 e, conseqüentemente, redução na liberação de O_2 aos tecidos.
- C. Sua curva de dissociação do O_2 deve estar deslocada para a direita em relação à Hb A.
- D. Sua presença resulta em anemia.

Resposta correta = B. A substituição da lisina por uma metionina diminui a capacidade dos grupos fosfato negativamente carregados do 2,3-BPG ligarem-se às subunidades β da hemoglobina. Uma vez que o 2,3-BPG diminui a afinidade da hemoglobina por O_2 , uma redução na ligação do 2,3-BPG deve resultar em aumento na afinidade pelo O_2 e redução em sua liberação para os tecidos. A forma R é a forma da hemoglobina de alta afinidade pelo oxigênio. Aumento na afinidade por O_2 (redução na liberação) resulta em um deslocamento para a esquerda na curva de dissociação do O_2 . A redução na liberação de O_2 é compensada pelo aumento na produção de eritrócitos.

3.5 Um homem com 67 anos se apresentou no setor de emergência com um histórico de uma semana de angina e respiração curta. Ele reclamou que seu rosto e suas extremidades apresentavam "coloração azulada". Sua história médica inclui angina crônica estável, tratada com dinitrato de isossorbida e nitroglicerina. O sangue retirado para análise apresentou coloração chocolate. Qual dos diagnósticos a seguir seria o mais provável?

- A. Anemia falciforme
- B. Carboxiemoglobinemia
- C. Metemoglobinemia
- D. β -Talassemia
- E. Doença da hemoglobina SC

Resposta correta = C. A oxidação do componente heme da hemoglobina para o estado férrico (Fe^{3+}) forma a metemoglobina. Isso pode ser causado pela ação de certas drogas, como os nitratos. As metemoglobinemias são caracterizadas por cianose chocolate (coloração marrom-azulada da pele e das membranas de mucosas) e sangue de coloração chocolate, como resultado da coloração escura da metemoglobina. Os sintomas estão relacionados com hipoxia tecidual e incluem ansiedade, dor de cabeça, dispnéia e, raramente, podem ocorrer coma e morte.

Proteínas Fibrosas

I. VISÃO GERAL

O colágeno e a elastina são exemplos de proteínas fibrosas da matriz extracelular, de ocorrência comum e bem caracterizadas, que exercem funções estruturais no organismo. Por exemplo, o colágeno e a elastina são componentes da pele, do tecido conjuntivo, da parede dos vasos sanguíneos e de partes do olho, como a córnea e a esclera. Cada proteína fibrosa apresenta propriedades mecânicas especiais, resultado de sua estrutura única, obtida pela combinação de aminoácidos específicos em elementos regulares de estrutura secundária. Isso contrasta com as proteínas globulares, cujas formas resultam de interações complexas entre elementos estruturais secundários, terciários e, às vezes, quaternários.

II. COLÁGENO

O colágeno é a proteína mais abundante no corpo humano. Uma típica molécula de colágeno é longa, com estrutura rígida, em que três cadeias polipeptídicas (referidas como “cadeias α ”) estão torcidas, uma em volta da outra, de forma semelhante a uma corda de tripla-hélice (Figura 4.1). Apesar de elas serem encontradas em todo o corpo, seus tipos e sua organização são determinados pelo papel estrutural que o colágeno desempenha em cada órgão específico. Em alguns tecidos, o colágeno pode estar disperso em forma de gel que sustenta a estrutura, como na matriz extracelular ou no humor vítreo do olho. Em outros tecidos, ele pode estar entrelaçado firmemente em fibras paralelas que conferem grande resistência, como nos tendões. Na córnea, o colágeno está empilhado de forma a transmitir a luz com o mínimo de dispersão. Nos ossos, o colágeno apresenta-se como um arranjo de fibras entremeadas uma às outras em ângulos variados, de forma a resistir a impactos mecânicos oriundos de todas as direções.

A. Tipos de colágeno

A superfamília das proteínas de colágeno inclui mais de 25 tipos de colágeno, assim como outras proteínas que apresentam domínios semelhantes ao colágeno. As três cadeias polipeptídicas α são unidas por

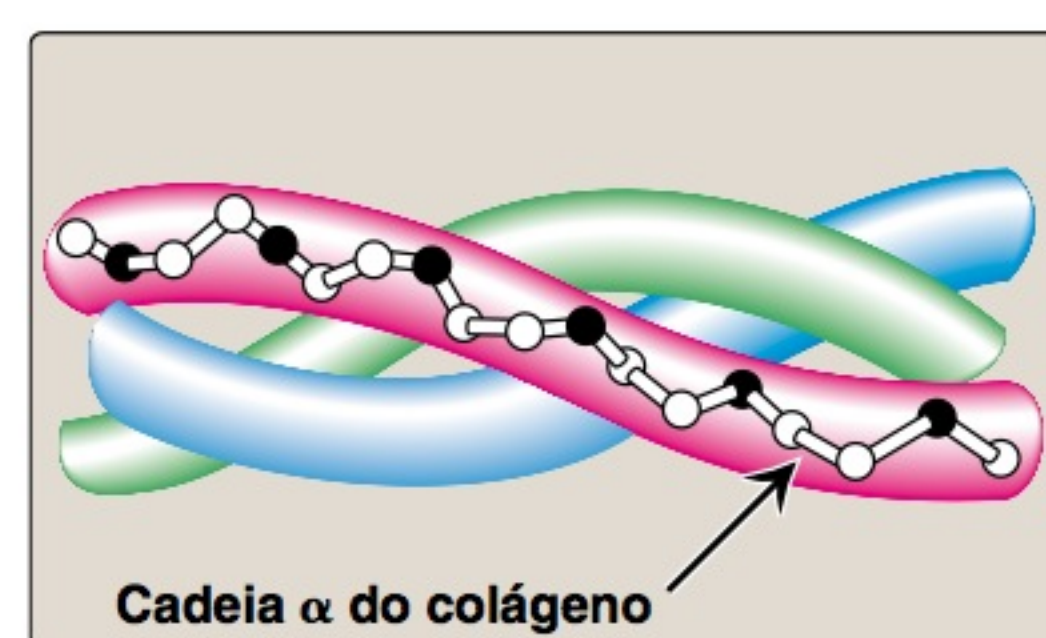


Figura 4.1
Tripla-hélice do colágeno.

TIPO	DISTRIBUIÇÃO TECIDUAL
Formados por fibrilas	
I	Pele, ossos, tendões, vasos sanguíneos, córnea
II	Cartilagem, disco intervertebral, corpo vítreo
III	Vasos sanguíneos, pele fetal
Formados por redes	
IV	Membrana basal
VII	Abaixo do epitélio estratificado escamoso
Associado a fibrilas	
IX	Cartilagem
XII	Tendões, ligamentos, alguns outros tecidos

Figura 4.2

Tipos mais abundantes de colágeno.

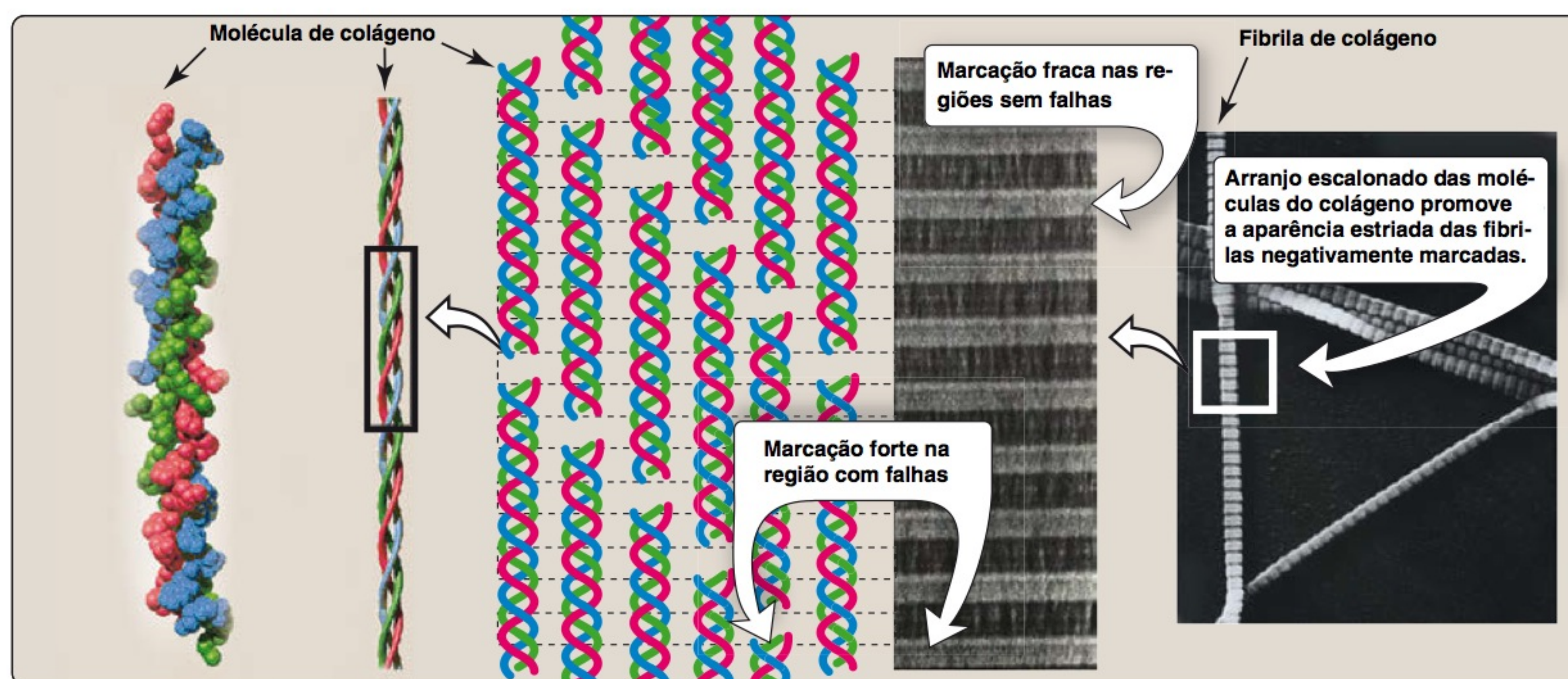
meio de ligações de hidrogênio entre as cadeias. Variações na sequência de aminoácidos das cadeias α resultam em componentes estruturais de tamanho semelhante (cerca de 1.000 aminoácidos), mas com propriedades ligeiramente diferentes. Essas cadeias α combinam-se para formar os vários tipos de colágeno encontrados nos tecidos. Por exemplo, o colágeno mais comum, do tipo I, contém duas cadeias chamadas α_1 e uma cadeia chamada α_2 ($\alpha_1\alpha_2$), enquanto o colágeno do tipo II contém três cadeias α_1 ($\alpha_1\alpha_1\alpha_1$). Os colágenos podem ser organizados em três grupos, com base em sua localização e suas funções no organismo (Figura 4.2).

1. Colágenos formadores de fibrilas. Colágenos dos tipos I, II, e III são fibrilares e têm estrutura semelhante a uma corda, conforme descrito anteriormente para uma molécula típica de colágeno. Ao microscópio eletrônico, esse polímero linear de fibrilas apresenta padrões de bandas característicos, refletindo a organização escalonada regular das moléculas individuais do colágeno nas fibrilas (Figura 4.3). As fibras de colágeno do tipo I são encontradas nos elementos estruturais que apresentam alta resistência à tensão (p. ex., tendão e córnea), enquanto as fibras formadas pelas moléculas de colágeno do tipo II estão restritas a estruturas cartilaginosas. As fibras derivadas do colágeno do tipo III são prevalentes nos tecidos mais elásticos, como as paredes vasculares.

2. Colágenos formadores de redes. Os colágenos dos tipos IV e VII formam uma malha tridimensional, em vez de fibrilas distintas (Figura 4.4). Por exemplo, as moléculas do tipo IV se associam em uma lâmina ou malha que constitui a maior parte das membranas basais.



Membranas basais são estruturas finas, semelhantes a lâminas, que promovem suporte mecânico para células adjacentes e funcionam como barreira de filtração semipermeável para macromoléculas em órgãos como o rim e o pulmão.

**Figura 4.3**

As fibrilas de colágeno à direita apresentam um padrão de bandas característico, refletindo a organização regularmente escalonada das moléculas de colágeno dentro da fibrila.

- Colágeno associado a fibrilas.** Os colágenos dos tipos IX e XII ligam-se à superfície das fibrilas de colágeno, conectando essas fibrilas umas às outras e a outros componentes da matriz extracelular (Figura 4.2).

B. Estrutura do colágeno

- Sequência de aminoácidos.** O colágeno é rico em prolina e glicina, ambos importantes na formação da tripla-hélice. A prolina facilita a formação da conformação helicoidal em cada uma das cadeias α , porque a sua estrutura em anel causa “torções” na cadeia polipeptídica. (Nota: a presença de prolina determina que a conformação da cadeia α não pode ser uma hélice α .) A glicina, o menor aminoácido, é encontrada a cada três posições na cadeia polipeptídica. Ela se adapta ao espaço restrito onde as três hélices se aproximam. Os resíduos de glicina são parte da sequência repetitiva –Gly–X–Y–, onde X frequentemente é prolina e Y geralmente é hidroxiprolina (podendo também ser hidroxilisina, Figura 4.5). Assim, a maior parte da cadeia α pode ser vista como um politripeptídeo, cuja sequência pode ser representada como (–Gly–Pro–Hyp–)₃₃₃.
- Estrutura em tripla-hélice.** Diferentemente da maioria das proteínas globulares, que estão dobradas em estruturas compactas, o colágeno, uma proteína fibrosa, possui uma estrutura em tripla-hélice alongada, que situa muitas de suas cadeias laterais de aminoácidos na superfície da molécula. (Nota: isso permite a formação de ligações entre os grupos R dos monômeros de colágeno vizinhos, resultando na sua agregação em longas fibras.)
- Hidroxiprolina e hidroxilisina.** O colágeno contém hidroxiprolina (Hyp) e hidroxilisina (Hyl), que não estão presentes na maioria das demais proteínas. Esses resíduos resultam da hidroxilação de alguns dos resíduos de prolina e lisina, após sua incorporação na cadeia polipeptídica (Figura 4.6). A hidroxilação é, assim, um exemplo de modificação pós-traducional (veja a p. 443). A hidroxiprolina é importante para estabilizar a estrutura em tripla-hélice do colágeno, pois maximiza a formação de ligações de hidrogênio intercadeias.
- Glicosilação.** O grupo hidroxila dos resíduos de hidroxilisina do colágeno pode ser glicosilado enzimaticamente. Mais comumente, a glicose e a galactose são ligadas sequencialmente à cadeia polipeptídica antes da formação da tripla-hélice (Figura 4.7).

C. Biossíntese do colágeno

Os polipeptídeos precursores da molécula do colágeno são formados nos fibroblastos (ou nos osteoblastos dos ossos e condroblastos da cartilagem) e secretados na matriz extracelular. Depois de modificações enzimáticas, os monômeros de colágeno maduros agregam-se, estabelecendo ligações cruzadas e formando as fibrilas do colágeno.

- Formação das pró-cadeias α .** O colágeno é uma das muitas proteínas que normalmente funcionam no exterior das células. Como a maioria das proteínas produzidas para serem exportadas, os precursores polipeptídicos das cadeias α (pré-pró-cadeias α), quando recém-sintetizados, contêm uma sequência especial de aminoácidos em suas extremidades amino. Essa sequência atua como sinal para que, na ausência de outros sinais, o polipeptídeo que está sendo sintetizado seja destinado a ser secretado da célula. Essa sequência sinalizadora facilita a ligação dos ribossomos ao retículo

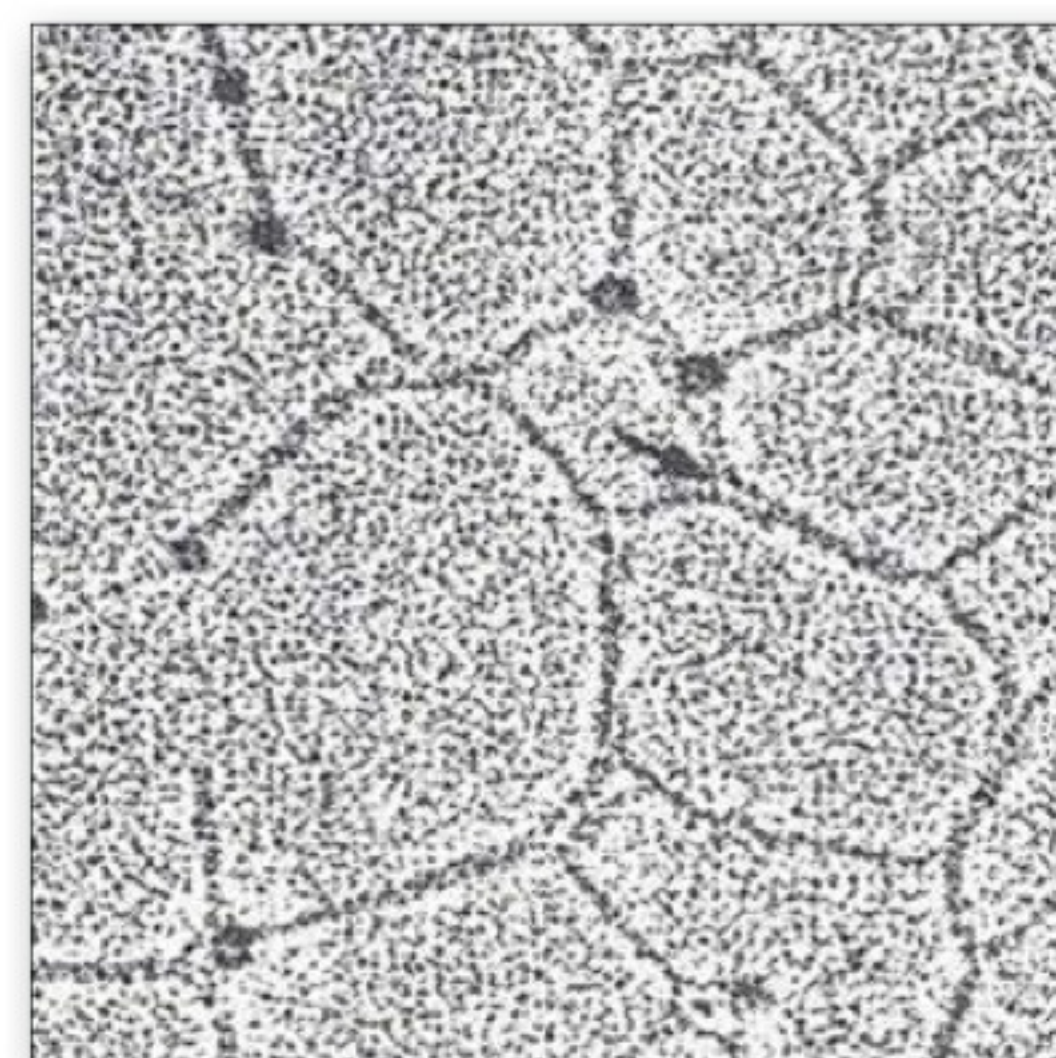


Figura 4.4

Micrografia eletrônica de uma rede poligonal formada pela associação de monômeros de colágeno do tipo IV.

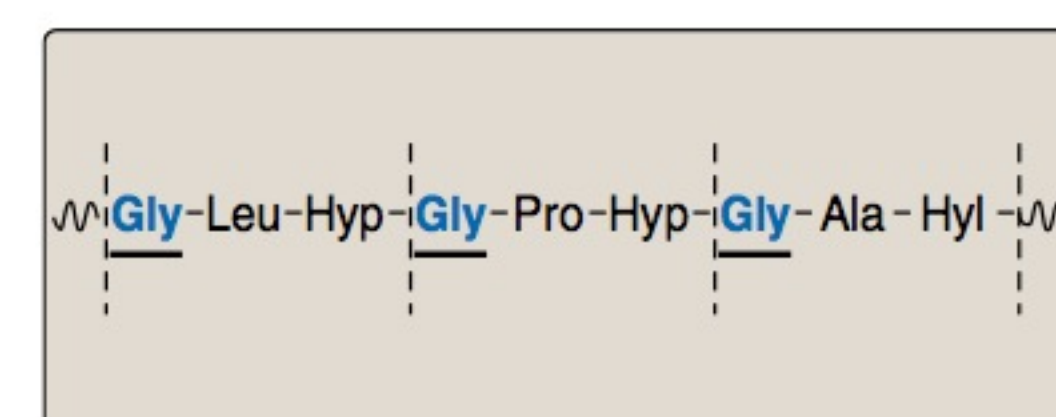


Figura 4.5

Sequência de aminoácidos de parte da cadeia α_1 do colágeno. (Nota: Hyp é hidroxiprolina e Hyl é hidroxilisina.)

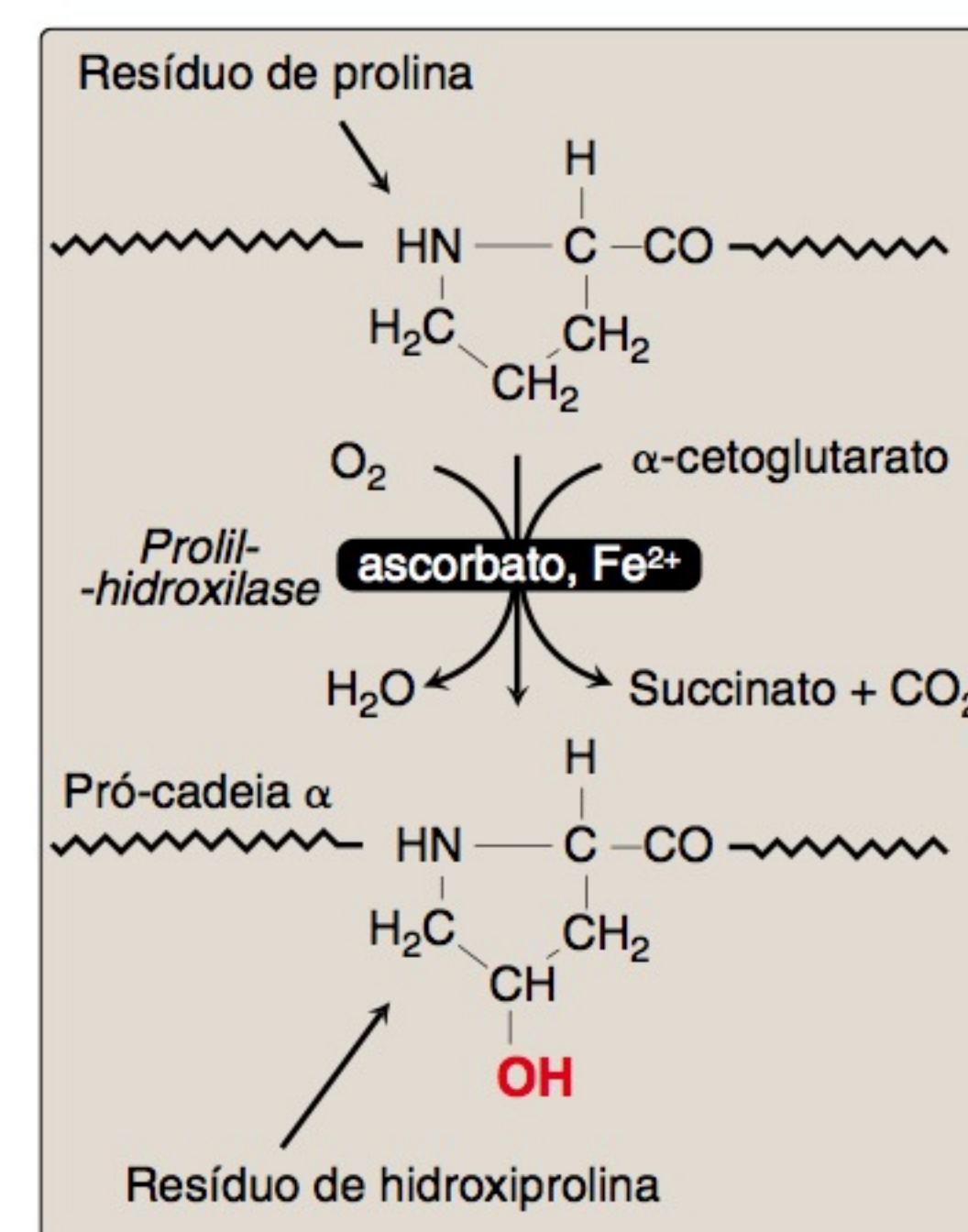
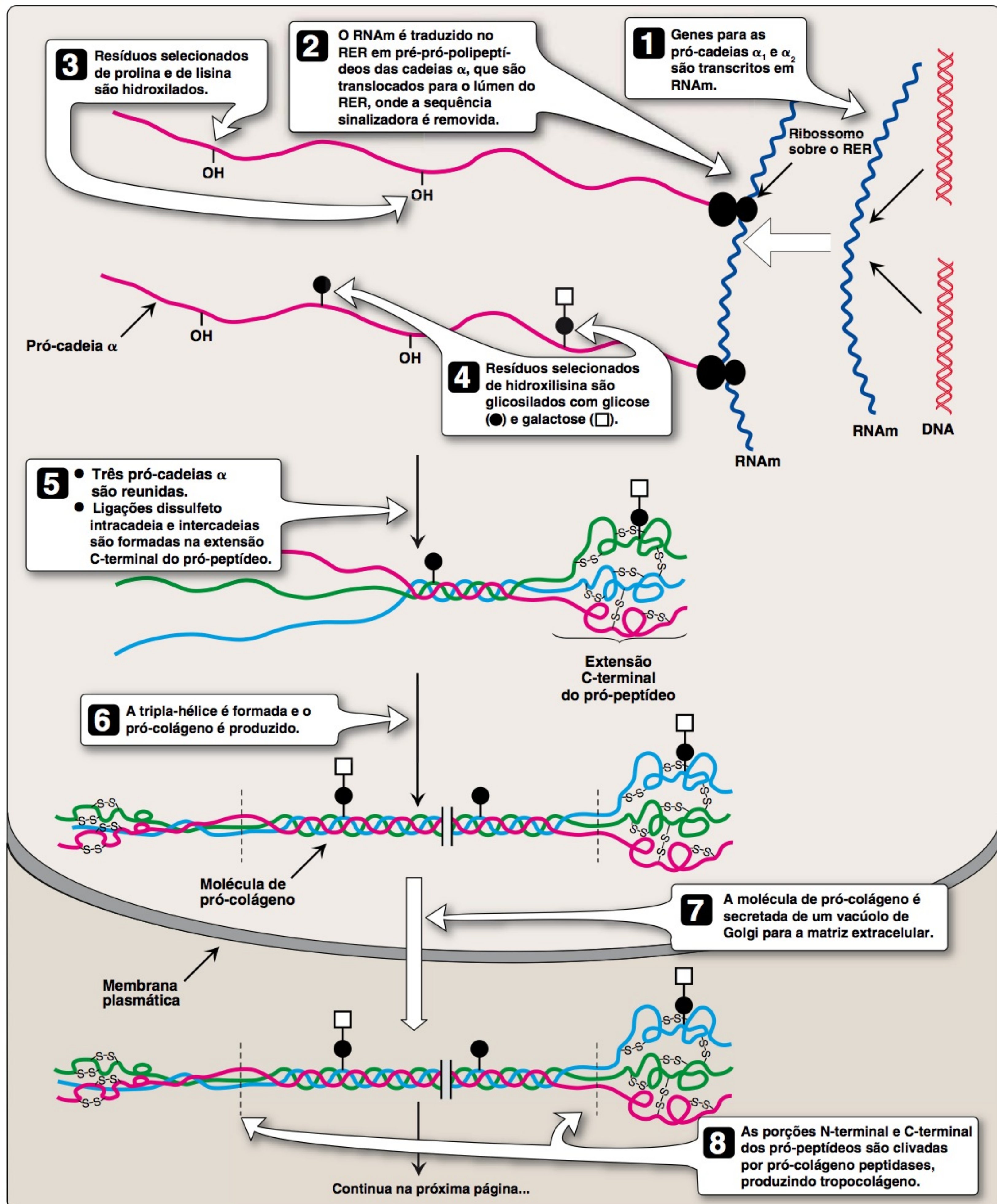
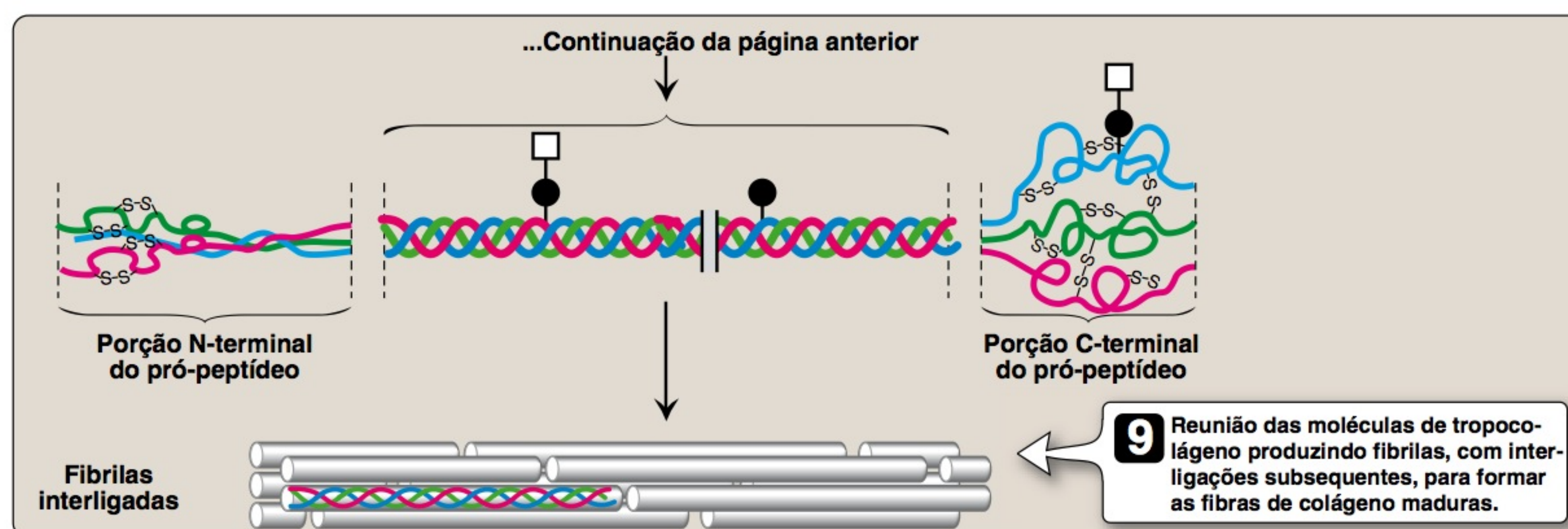


Figura 4.6

Hidroxilação de resíduos de prolina de pró-cadeias α de colágeno pela prolil-hidroxilase.

**Figura 4.7**

Síntese do colágeno. RER = retículo endoplasmático rugoso (*continua na próxima página*).


Figura 4.7

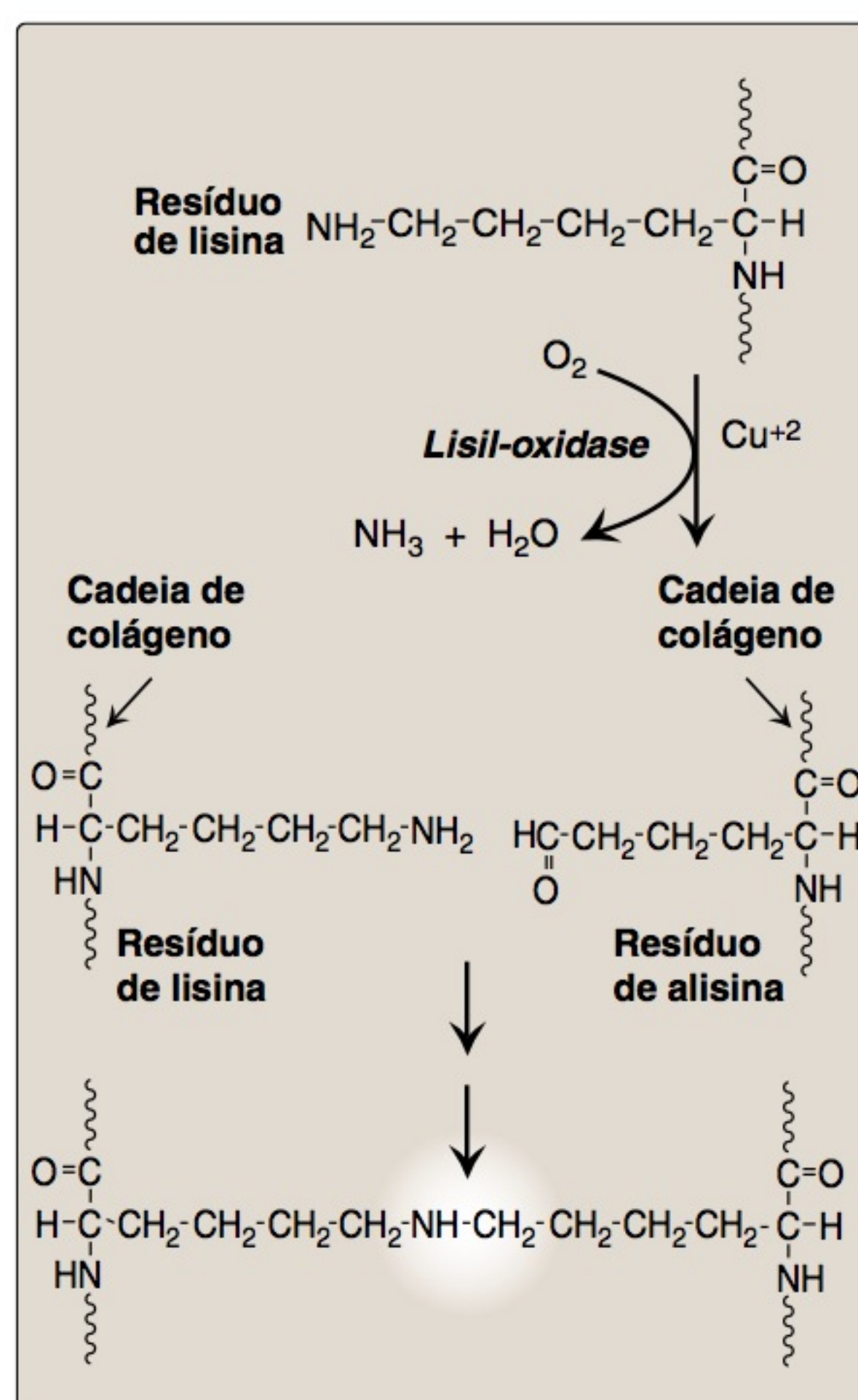
 Síntese do colágeno (*continuação da página anterior*).

endoplasmático rugoso (RER) e direciona a passagem da pré-pró-cadeia α para dentro do lúmen do RER. A sequência sinalizadora é rapidamente clivada no retículo endoplasmático, produzindo um precursor do colágeno denominado pró-cadeia α (Figura 4.7).

2. **Hidroxilação.** As pró-cadeias α são processadas por diversos passos enzimáticos dentro do lúmen do RER, enquanto os polipeptídeos ainda estão sendo sintetizados (Figura 4.7). Os resíduos de prolina e lisina encontrados na posição Y da sequência Gly-X-Y podem ser hidroxilados para formar resíduos de hidroxiprolina e hidroxilisina. Essas reações de hidroxilação requerem oxigênio molecular, Fe^{2+} e o agente redutor vitamina C (ácido ascórbico, veja a p. 377), sem os quais as enzimas hidroxilantes, *prolil-hidroxilase* e *lisil-hidroxilase*, são incapazes de funcionar (Figura 4.6). No caso de deficiência de ácido ascórbico (e, dessa forma, ausência de hidroxilação da prolina e da lisina), a formação de ligações de H entre cadeias é prejudicada, assim como a formação de uma tripla-hélice estável. Além disso, as fibras do colágeno não podem estabelecer ligações cruzadas (veja a seguir), diminuindo enormemente a resistência à tensão nas fibras reunidas. A doença resultante dessa deficiência é o escorbuto. Pacientes com deficiência de ácido ascórbico também apresentam frequentemente hematomas nos membros, como resultado do extravasamento subcutâneo de sangue devido à fragilidade capilar (Figura 4.8).
3. **Glicosilação.** Alguns resíduos de hidroxilisina são modificados por glicosilação com glicose ou glicosil-galactose (Figura 4.7).
4. **Polimerização e secreção.** Depois da hidroxilação e da glicosilação, as pró-cadeias α formam o pró-colágeno, um precursor do colágeno que apresenta uma região central de tripla-hélice rodeada por extensões não helicoidais aminoterminais e carboxiterminais, chamadas de pró-peptídeos (Figura 4.7). A formação do pró-colágeno inicia com a formação de pontes dissulfeto intercadeias entre as extensões C-terminais das pró-cadeias α . Isso traz as três cadeias α para um alinhamento favorável à formação da hélice. As moléculas do pró-colágeno são translocadas para o aparelho de Golgi, onde são empacotadas em vesículas secretoras. As vesículas fundem-se com a membrana celular, levando à liberação de moléculas de pró-colágeno no espaço extracelular.


Figura 4.8

As pernas de um homem de 46 anos com escorbuto.

**Figura 4.9**

Formação de ligações cruzadas no colágeno.

- 5. Clivagem extracelular das moléculas de pró-colágeno.** Depois de serem liberadas, as moléculas de pró-colágeno são clivadas pelas *N*- e *C*-pró-colágeno-peptidases, as quais removem os pró-peptídeos terminais, liberando as moléculas de tripla-hélice do tropocolágeno.
- 6. Formação das fibrilas de colágeno.** Moléculas individuais de tropocolágeno associam-se espontaneamente para formar fibrilas de colágeno. Elas formam um arranjo ordenado, sobreposto e paralelo, em que as moléculas de colágeno adjacentes formam um arranjo escalonado, cada molécula sobrepondo-se à molécula vizinha pelo comprimento de aproximadamente três quartos de molécula (Figura 4.7).
- 7. Formação de ligações cruzadas.** O arranjo fibrilar de moléculas de colágeno serve como substrato para a *lisil-oxidase*. Essa enzima extracelular contendo Cu^{+2} desamina oxidativamente alguns resíduos de lisina e hidroxilisina do colágeno. Os aldeídos reativos resultantes (alisina e hidroxialisina) podem se condensar com outros resíduos lisil ou hidroxilisil das moléculas de colágeno vizinhas, para formar ligações covalentes cruzadas e, assim, fibras de colágeno maduras (Figura 4.9).

A lisil-oxidase é uma entre muitas enzimas que contêm cobre. Entre as outras, estão a *citocromo-oxidase* (veja p. 76), a *dopamina-hidroxilase* (veja p. 286), a *superóxido-dismutase* (veja p. 148) e a *tirosinase* (veja p. 273). Alterações na homeostase do cobre causam deficiência (doença de Menkes ligada ao X) ou acúmulo (doença de Wilson) de cobre.

D. Degradação do colágeno

Colágenos normais são moléculas altamente estáveis, tendo meias-vidas que podem chegar a muitos anos. Entretanto, o tecido conjuntivo é muito dinâmico e está constantemente sendo remodelado, muitas vezes em resposta ao crescimento ou à lesão do tecido. A quebra das fibras do colágeno é dependente da ação proteolítica das *colagenases*, as quais fazem parte de uma grande família de *metalo-proteinases* de matriz. Para o colágeno do tipo I, o sítio de clivagem é específico, gerando fragmentos de três quartos e de um quarto do comprimento. Esses fragmentos são degradados posteriormente por outras proteinases da matriz até seus aminoácidos constituintes.

E. Doenças do colágeno: collagenopatias

Defeitos em qualquer um dos muitos passos da síntese das fibras do colágeno podem resultar em doenças genéticas envolvendo a incapacidade do colágeno em formar fibras adequadamente e, assim, prover os tecidos com a necessária resistência à tensão normalmente promovida pelo colágeno. Mais de 1.000 mutações foram identificadas em 22 genes que codificam 12 tipos de colágeno. A seguir, são fornecidos alguns exemplos de doenças resultantes da síntese defeituosa do colágeno.

- 1. Síndrome de Ehlers-Danlos (EDS).** Essa síndrome engloba um grupo heterogêneo de doenças generalizadas do tecido conjuntivo, resultantes de erros inatos do metabolismo das moléculas de fibrilas de colágeno. A EDS pode resultar da deficiência de enzimas que processam o colágeno (p. ex., *lisil-hidroxilase* ou *pró-colágeno-peptidase*) ou de mutações na sequência de aminoácidos do colágeno dos tipos I,

**Figura 4.10**

Pele elástica na síndrome de Ehlers-Danlos.

III ou V. As mutações clinicamente mais importantes são encontradas no gene para o colágeno do tipo III. O colágeno com cadeias mutantes não é secretado, sendo degradado ou acumulado em grande quantidade nos compartimentos intracelulares. Uma vez que o colágeno do tipo III é um importante componente das artérias, podem ocorrer problemas vasculares letais. (Nota: embora o colágeno do tipo III seja apenas um componente menor das fibrilas do colágeno da pele, por razões desconhecidas os pacientes com EDS também apresentam defeitos nas fibrilas de colágeno do tipo I. Isso resulta em pele elástica e frágil e articulações frouxas [Figura 4.10].)

2. **Osteogênese imperfeita (*osteogenesis imperfecta*, OI).** Essa doença, conhecida como síndrome dos ossos frágeis, é também constituída por um grupo heterogêneo de distúrbios hereditários, caracterizados por ossos que facilmente “vergam” e fraturam (Figura 4.11). Cicatrização demorada e coluna retorcida, que dá um aspecto de “corcunda”, são características comuns da doença. A OI do tipo I é chamada de osteogênese imperfeita tardia. A doença é consequência da diminuição da produção das cadeias $\alpha 1$ e $\alpha 2$. Essa doença surge no início da infância, com fraturas secundárias a traumas menores, e pode-se suspeitar de sua ocorrência se no ultrassom pré-natal forem detectados arcos ou fraturas nos ossos longos. A OI do tipo II, chamada de osteogênese imperfeita congênita, é mais grave, e os pacientes morrem de hipoplasia pulmonar ainda no útero ou no período neonatal. A maioria dos pacientes com OI grave apresenta mutações nos genes das cadeias de pró-colágeno do tipo I, pró- $\alpha 1$ ou pró- $\alpha 2$. As mutações mais comuns causam a substituição de resíduos de glicina (em –Gly–X–Y–) por aminoácidos com cadeias laterais volumosas. As pró-cadeias α estruturalmente anormais resultantes impedem a organização da proteína na conformação em tripla-hélice.

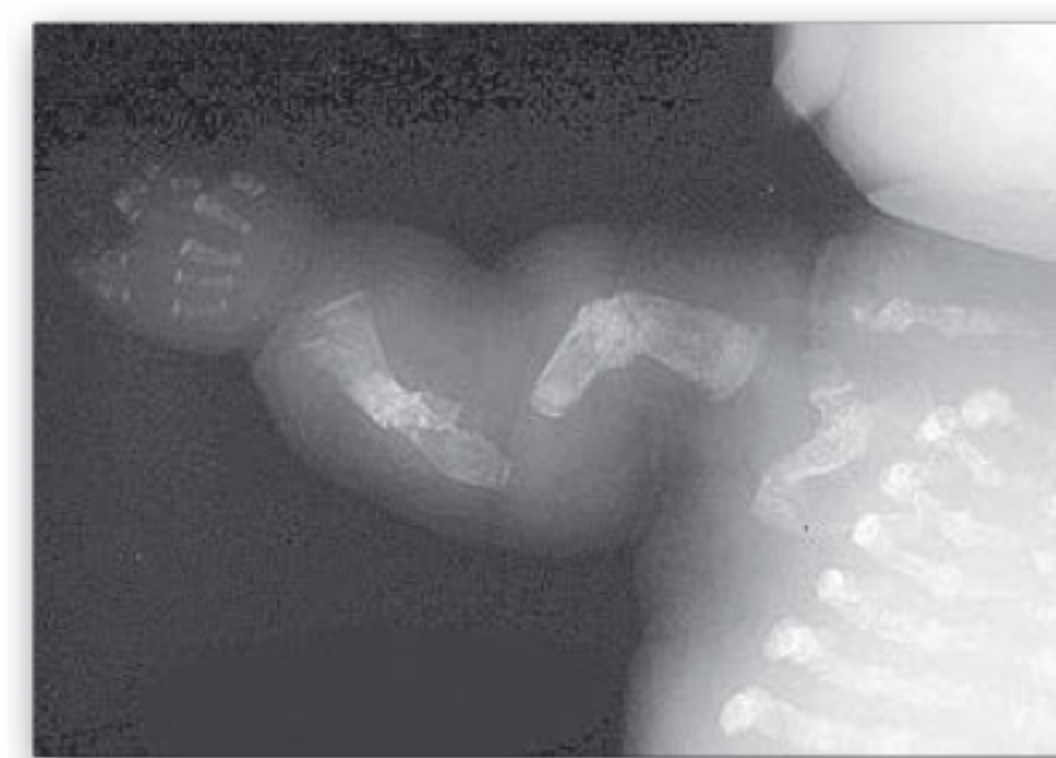


Figura 4.11

Forma letal de osteogênese imperfeita (tipo II) na qual as fraturas aparecem intraútero, reveladas por esta radiografia de um feto natimorto.

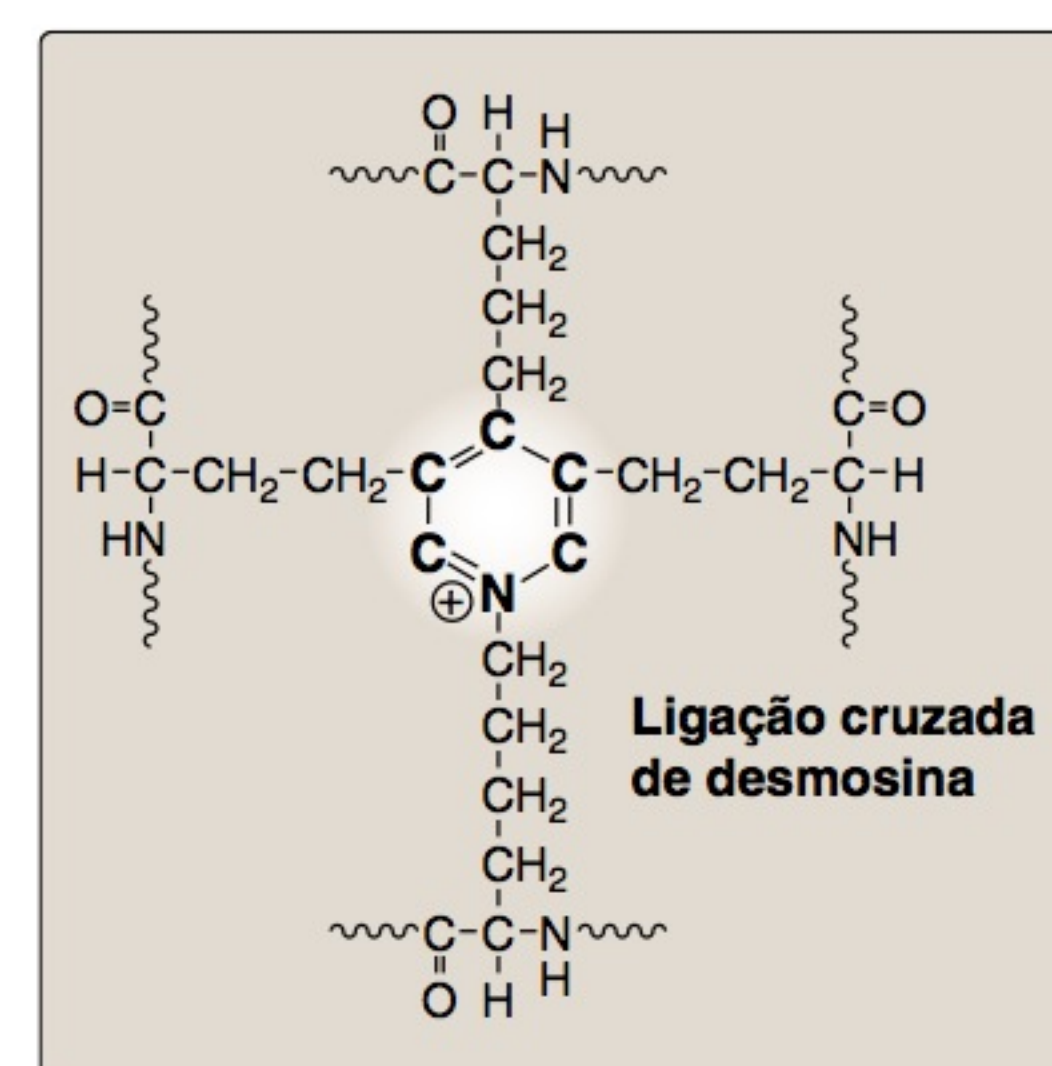


Figura 4.12

Ligações cruzadas de desmosina na elastina.

III. ELASTINA

Em contraste com o colágeno, que forma fibras de alta resistência à tensão, a elastina é uma proteína do tecido conjuntivo com propriedades semelhantes às da borracha. Fibras elásticas compostas de microfibrilas de elastina e de glicoproteínas são encontradas nos pulmões, na parede das grandes artérias e nos ligamentos elásticos. Elas podem ser distendidas em várias vezes o seu comprimento normal, mas retornam ao formato original quando a força de tensão é relaxada.

A. Estrutura da elastina

A elastina é um polímero proteico insolúvel, sintetizado a partir de um precursor, a tropoelastina, a qual é um polipeptídeo linear composto por cerca de 700 aminoácidos, a maioria deles pequenos e apolares (p. ex., glicina, alanina e valina). A elastina é também rica em prolina e lisina, mas contém pouca hidroxiprolina e hidroxilisina. A tropoelastina é secretada pela célula no espaço extracelular. Neste, ela interage com determinadas microfibrilas de glicoproteínas, como a fibrilina, que funciona como um suporte sobre o qual a tropoelastina é depositada. Algumas das cadeias laterais de lisina nos polipeptídeos da tropoelastina são desaminadas oxidativamente pela *lisil-oxidase*, formando resíduos de alisina. Três cadeias laterais de resíduos de alisina mais uma cadeia lateral de um resíduo de lisina não alterado, da mesma cadeia polipeptídica ou de cadeias vizinhas, formam uma ligação cruzada denominada desmosina (Figura 4.12). Isso produz a elastina – uma rede semelhante à borracha, amplamente interconectada, que pode ser distendida em qualquer direção quando tensionada, fornecendo elasti-

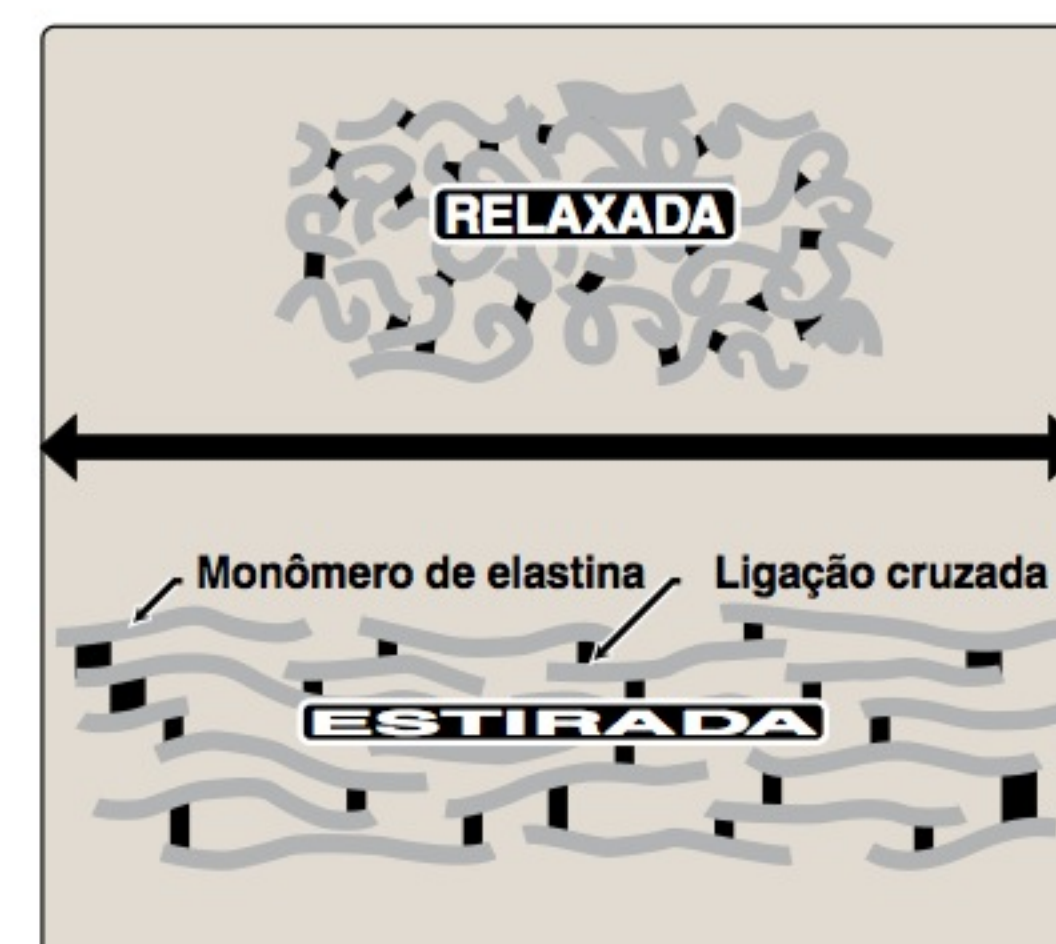
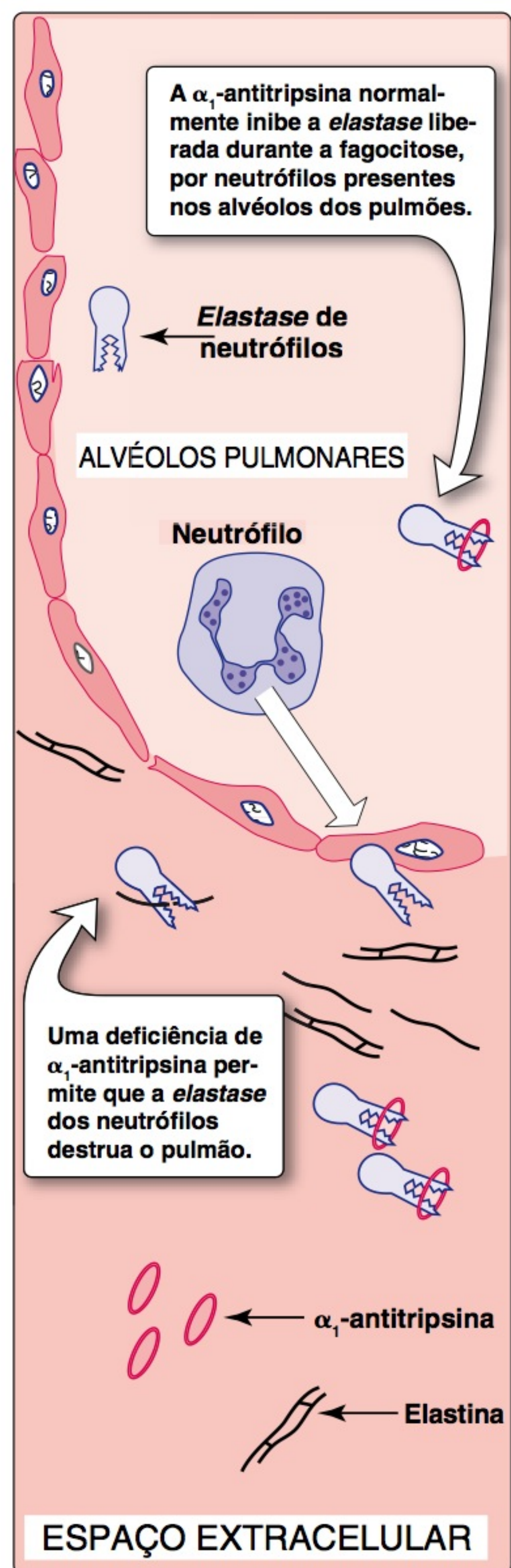


Figura 4.13

Fibras de elastina nas conformações relaxada e estirada.

**Figura 4.14**

Destruição do tecido alveolar pela *elastase*, liberada dos neutrófilos, ativada como parte da resposta imunitária a patógenos presentes no ar.

cidade ao tecido conjuntivo (Figura 4.13). Mutações nos genes da fibrilina-1 são responsáveis pela síndrome de Marfan – uma doença do tecido conjuntivo caracterizada pela deterioração da integridade estrutural do esqueleto, do olho e do sistema cardiovascular. Nessa doença, a proteína fibrilina anormal é incorporada em microfibrilas juntamente com a fibrilina normal, inibindo assim a formação de microfibrilas funcionais. (Nota: pacientes com OI, EDS ou síndrome de Marfan podem ter a esclera azul devido ao afinamento do tecido, o que expõe o pigmento subjacente.)

B. Papel da α_1 -antitripsina na degradação da elastina

1. **α_1 -antitripsina.** O sangue e outros fluidos corporais contêm uma proteína, a α_1 -antitripsina (α_1 -AT, A1AT, também comumente chamada de α_1 -antiproteínase), que inibe diversas enzimas proteolíticas (também chamadas de proteases ou proteinases), as quais hidrolisam e destroem proteínas. (Nota: o inibidor foi denominado originalmente α_1 -antitripsina porque inibe a atividade da *tripsina* [uma enzima proteolítica sintetizada como tripsinogênio pelo pâncreas, veja a p. 248].) A α_1 -AT compreende mais de 90% da fração α_1 -globulina do plasma normal. A α_1 -AT tem o importante papel fisiológico de inibir a *elastase* de neutrófilos – uma potente protease que, ao ser liberada no espaço extracelular, degrada a elastina das paredes alveolares, assim como outras proteínas estruturais em vários tecidos (Figura 4.14). A maior parte da α_1 -AT encontrada no plasma é sintetizada e secretada pelo fígado. O restante é sintetizado em diversos tecidos, incluindo monócitos e macrófagos alveolares, os quais podem ser importantes na prevenção de lesões teciduais locais causadas pela *elastase*.
2. **Papel da α_1 -AT nos pulmões.** No pulmão normal, os alvéolos são expostos cronicamente a baixos níveis de *elastase*, liberada a partir de neutrófilos ativos ou em degeneração. Essa atividade proteolítica pode destruir a elastina na parede alveolar se não for contraposta pela ação inibitória da α_1 -AT, o mais importante inibidor da *elastase* dos neutrófilos (Figura 4.14). Uma vez que o tecido pulmonar não pode se regenerar, a destruição do tecido conjuntivo da parede alveolar causa enfisema.
3. **Enfisema resultante da deficiência de α_1 -AT.** Nos Estados Unidos, cerca de 2 a 5% dos pacientes com enfisema apresentam predisposição à doença devido à deficiência hereditária da α_1 -AT. São conhecidas várias mutações no gene da α_1 -AT que causam a deficiência dessa proteína, mas uma única mutação em uma base púrica (GAG → AAG, resultando na substituição de uma lisina por glutamato na posição 342 da proteína) é, clinicamente, a mais encontrada. A polimerização da proteína mutada no retículo endoplasmático dos hepatócitos causa uma secreção diminuída de α_1 -AT pelo fígado. O polímero acumulado pode resultar em cirrose hepática (cicatrizes no fígado). Nos Estados Unidos, a mutação da α_1 -AT é mais comum nos descendentes de caucasianos do Norte Europeu. Um indivíduo deve herdar dois alelos α_1 -AT anormais para estar em risco de desenvolver enfisema. Em um indivíduo heterozigoto, com um gene normal e um gene defeituoso, os níveis de α_1 -AT são suficientes para proteger os alvéolos da lesão. (Nota: uma metionina específica na α_1 -AT é necessária para a ligação do inibidor às suas proteases-alvo. O fumo causa a oxidação e a subsequente inativação desse resíduo de metionina, diminuindo assim a eficiência do inibidor em neutralizar a elastase. Fumantes com deficiência de α_1 -AT, portanto, apresentam taxa consideravelmente maior de lesão pulmonar e menor taxa de sobrevivência, comparados com indivíduos não fumantes portadores da de-

ficiência.) A deficiência do inibidor de *elastase* pode ser revertida por terapia de aumento – administração semanal de α_1 -AT intravenosa. A α_1 -AT difunde a partir do sangue para o pulmão, onde atinge níveis terapêuticos no fluido que cerca as células epiteliais do pulmão.

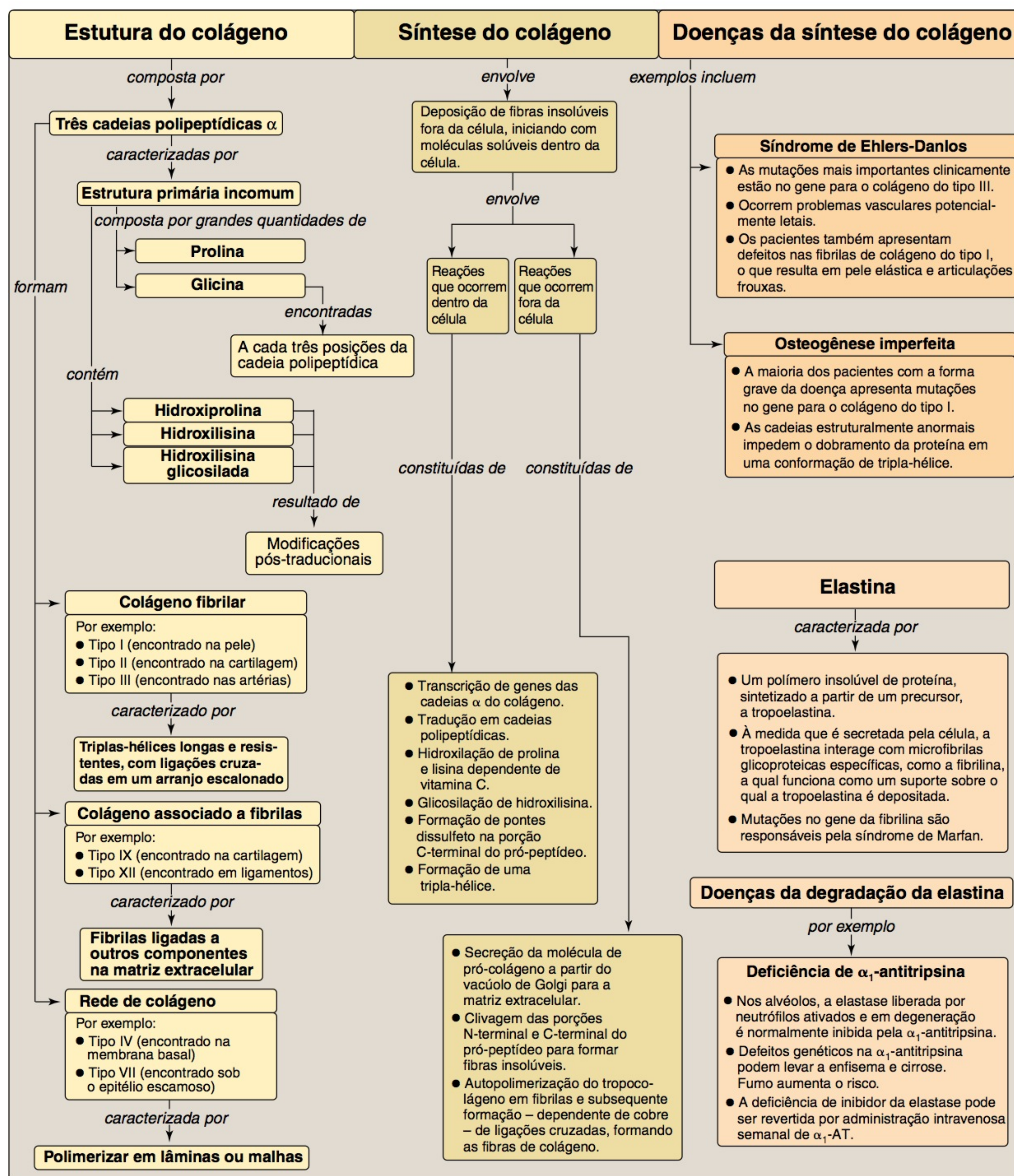


Figura 4.15

Mapa de conceitos-chave para as proteínas fibrosas, colágeno e elastina.

IV. RESUMO DO CAPÍTULO

O colágeno e a elastina são proteínas fibrosas (Figura 4.15). As moléculas de colágeno contêm grande abundância de **prolina**, **lisina** e **glicina**, esta última ocorrendo a cada terceira posição da estrutura primária. O colágeno também contém **hidroxiprolina**, **hidroxilisina** e **hidroxilisina glicosilada**, formadas por meio de modificações pós-traducionais. Tipicamente, as moléculas de colágeno formam **fibrilas**, que contêm uma longa e firme estrutura tripla helicoidal, na qual três cadeias polipeptídicas do colágeno são torcidas uma ao redor da outra, formando uma super-hélice que lembra uma corda (**tripla-hélice**). Outros tipos de colágeno formam redes semelhantes a uma malha. A **elastina**, proteína do tecido conjuntivo com propriedades semelhantes às da borracha, ocorre em tecidos como o pulmão. A α_1 -**antitripsina** (α_1 -AT), produzida principalmente pelo fígado, mas também por outros tecidos como monócitos e macrófagos alveolares, impede a degradação da elastina das paredes alveolares. A deficiência de α_1 -AT pode causar **enfisema** e, em alguns casos, cirrose hepática.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 4.1 Uma mulher de 30 anos apresentou redução progressiva da respiração. Ela negou ser fumante. O histórico familiar revelou que sua irmã sofreu de uma doença pulmonar não explicada. Qual das seguintes etiologias poderia justificar os sintomas pulmonares da paciente?

A. Deficiência de prolina-hidroxilase.
B. Deficiência de α_1 -antitripsina.
C. Deficiência de vitamina C na dieta.
D. Diminuição da atividade da elastase.
E. Aumento da atividade da collagenase.

Resposta correta = B. A deficiência de α_1 -antitripsina é um distúrbio genético que pode causar enfisema pulmonar mesmo na ausência do uso de cigarros. Uma deficiência de α_1 -antitripsina permite que um aumento na atividade da elastase destrua a elastina nas paredes alveolares, mesmo em não fumantes. Deve-se suspeitar de deficiência de α_1 -antitripsina quando uma doença pulmonar obstrutiva crônica ocorre em pacientes com menos de 45 anos, sem histórico de bronquite crônica ou de uso de tabaco, ou quando diversos membros da família desenvolvem doença pulmonar obstrutiva precocemente. As opções A, C e E se referem ao colágeno, não à elastina.

- 4.2 Uma criança de 7 meses caiu enquanto engatinhava, e agora apresenta inchaço em uma das pernas. Com um mês de idade, a criança teve fraturas múltiplas, com variados estados de cicatrização (clavícula direita, úmero direito e rádio direito). Agora, com 7 meses, a criança tem fratura de fêmur arqueado (veja o raio X à direita) em função de um trauma menor. Os ossos são finos, com uma fina trabécula e também finos córtices. Um cuidadoso histórico familiar excluiu traumas não acidentais (maus tratos) como causa das fraturas ósseas. Provavelmente, a criança tem um defeito no(a):



A. Colágeno tipo I.
B. Colágeno tipo III.
C. Colágeno tipo IV.
D. Elastina.
E. Fibrilina.

Resposta correta = A. A criança provavelmente tem osteogênese imperfeita. A maioria dos casos surge a partir de um defeito no gene que codifica o colágeno do tipo I. Os ossos, nos pacientes afetados, são finos, osteoporosos, frequentemente arqueados, com córtex fino e trabécula deficiente, e extremamente propensos a fraturas. Esse paciente é afetado pelo tipo I, osteogênese imperfeita tardia. A doença se manifesta no início da infância, com fraturas secundárias a pequenos traumas. Pode-se suspeitar dessa doença pela detecção, nos ultrassons pré-natais, de arqueamentos ou fraturas dos ossos longos. A doença do tipo II, osteogênese imperfeita congênita, é mais grave e os pacientes morrem de hipoplasia pulmonar *in utero* ou durante o período neonatal. Defeitos no colágeno do tipo III são a causa mais comum de síndrome de Ehlers-Danlos, caracterizada por problemas vasculares letais e pele elástica. O colágeno do tipo IV forma redes, não fibrilas.

- 4.3 Qual é a base diferencial das patologias do fígado e dos pulmões, observadas na deficiência de α_1 -AT?

Em função da deficiência de α_1 -AT, a cirrose hepática resultante deve-se à polimerização e retenção de α_1 -AT no fígado, onde é sintetizada. A patologia pulmonar deve-se à deficiência de α_1 -AT (um inibidor de serina-protease ou serpina) causada por essa retenção, de forma tal que a elastase (uma serina-protease) não é contraposta.

Enzimas

5

I. VISÃO GERAL

Praticamente todas as reações no organismo são mediadas por enzimas, as quais são proteínas catalisadoras que aumentam a velocidade das reações, sem sofrerem alterações no processo global. Dentre as muitas reações biológicas energeticamente possíveis, de forma seletiva, as enzimas canalizam reagentes (chamados de substratos) para rotas úteis. As enzimas comandam, assim, todos os eventos metabólicos. Este capítulo examina a natureza dessas moléculas catalíticas e o seu mecanismo de ação.

II. NOMENCLATURA

Cada enzima recebe dois nomes. O primeiro é o nome curto e recomendado, conveniente para uso corriqueiro. O segundo é o nome mais completo e sistemático, utilizado quando a enzima precisa ser identificada sem ambiguidades.

A. Nome recomendado

Os nomes de enzimas mais frequentemente utilizados têm o sufixo “-ase” adicionado ao nome do substrato da reação (p. ex., glicosidase e urease) ou à descrição da ação realizada (p. ex., lactato-desidrogenase e adenilato-ciclase). (Nota: algumas enzimas mantêm seu nome comum original, que não tem qualquer associação com a reação enzimática, por exemplo, tripsina e pepsina.)

B. Nome sistemático

Na designação sistemática, as enzimas são divididas em seis classes principais (Figura 5.1), cada uma com numerosos subgrupos. Para uma dada enzima, o sufixo -ase é adicionado a uma descrição bastante completa da reação química catalisada, incluindo os nomes de todos os substratos, como por exemplo *lactato:NAD⁺-oxidoreductase*. (Nota: cada enzima também recebe um número que a classifica.) Os nomes sistemáticos são exatos e informativos, mas às vezes são muito incômodos para o uso geral.

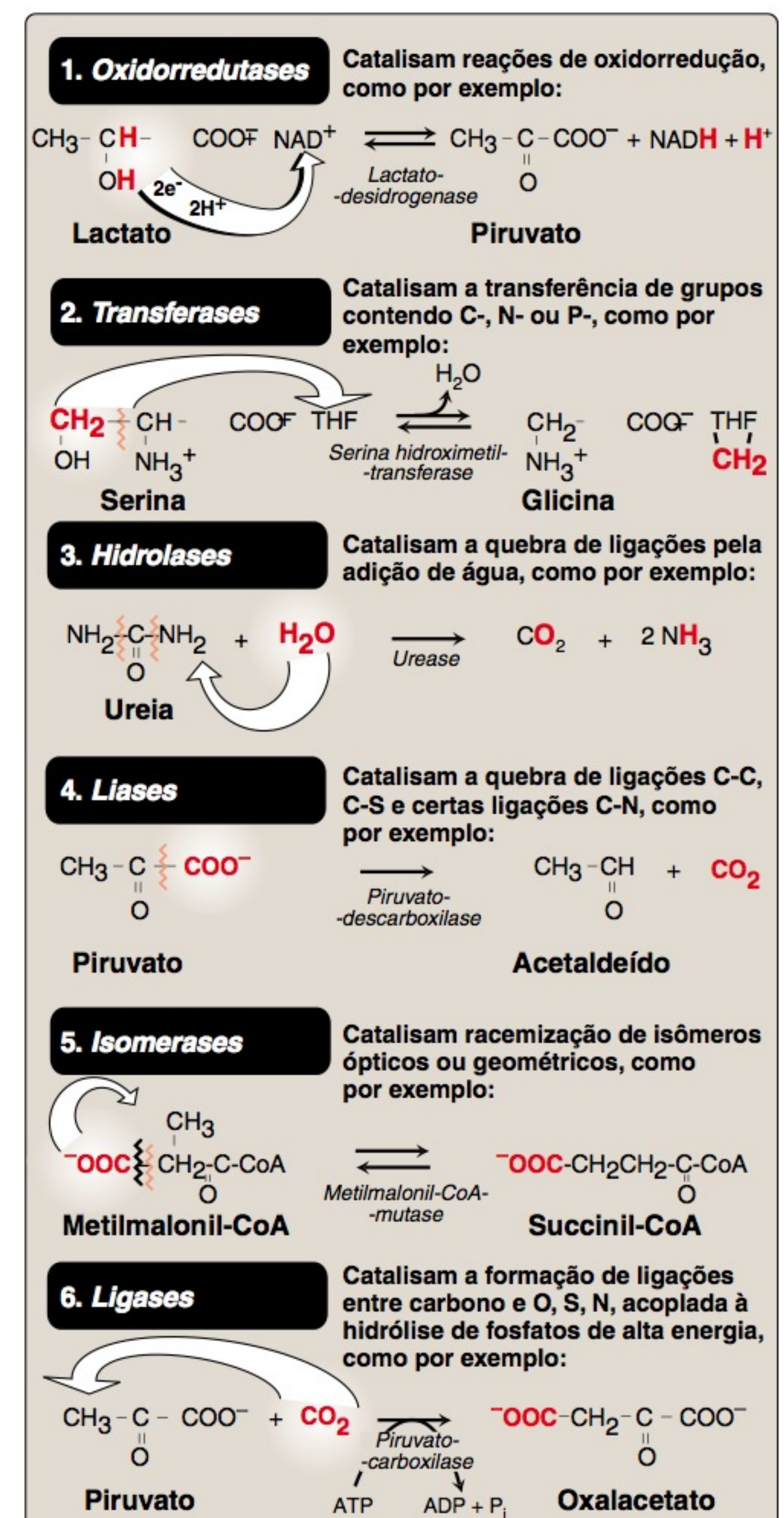
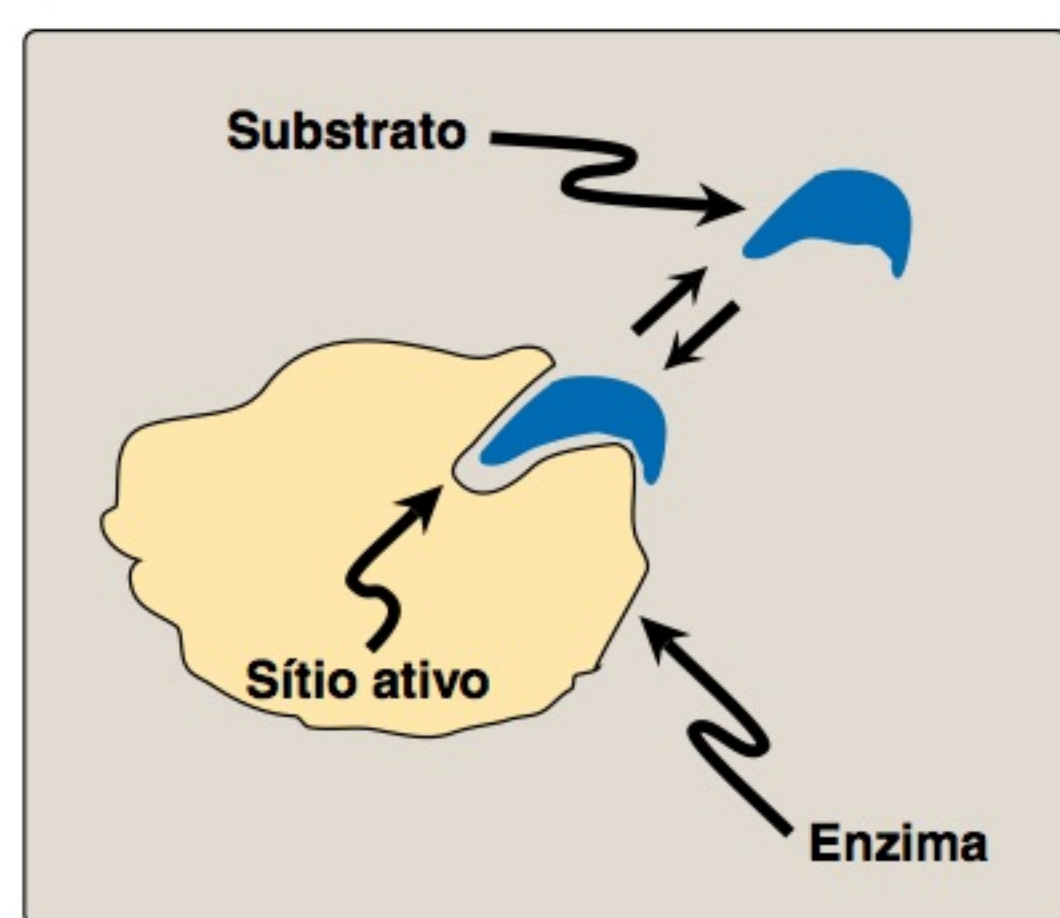


Figura 5.1

As seis principais classes de enzimas, com exemplos (THF é o tetra-hidrofolato).

**Figura 5.2**

Representação esquemática de uma enzima com um sítio ativo, ligando-se à molécula de substrato.

Nomenclatura enzimática potencialmente causadora de alguma confusão: sintetase (requer ATP), sintase (não requer ATP); fosfatase (utiliza água para remover o grupo fosforila), fosforilase (utiliza P_i para quebrar uma ligação, gerando um produto fosforilado); desidrogenase (NAD^+/FAD é o aceptor de elétrons em uma reação redox), oxidase (o O_2 é o aceptor, mas átomos de oxigênio não são incorporados ao substrato), oxigenase (um ou ambos os átomos de oxigênio são incorporados).

III. PROPRIEDADES DAS ENZIMAS

As enzimas são catalisadores proteicos que aumentam a velocidade de uma reação química e não são consumidos durante a reação que catalisam. (Nota: alguns tipos de RNA podem atuar como enzimas, geralmente catalisando a quebra e a síntese de ligações fosfodiéster. Os RNAs com atividade catalítica são chamados ribozimas (veja a p. 439) e são encontrados com muito menos frequência que os catalisadores proteicos.)

A. Sítios ativos

As moléculas enzimáticas contêm uma região específica, em forma de fenda ou bolso, chamada de sítio ativo. Este sítio contém cadeias laterais de aminoácidos que participam da ligação com o substrato e da catálise (Figura 5.2). O substrato liga-se à enzima, formando um complexo enzima-substrato (ES). Acredita-se que a ligação cause uma alteração conformacional na enzima (encaixe induzido) que permite a catálise. O complexo ES é convertido no complexo enzima-produto (EP), que posteriormente se dissocia em enzima e produto.

B. Eficiência catalítica

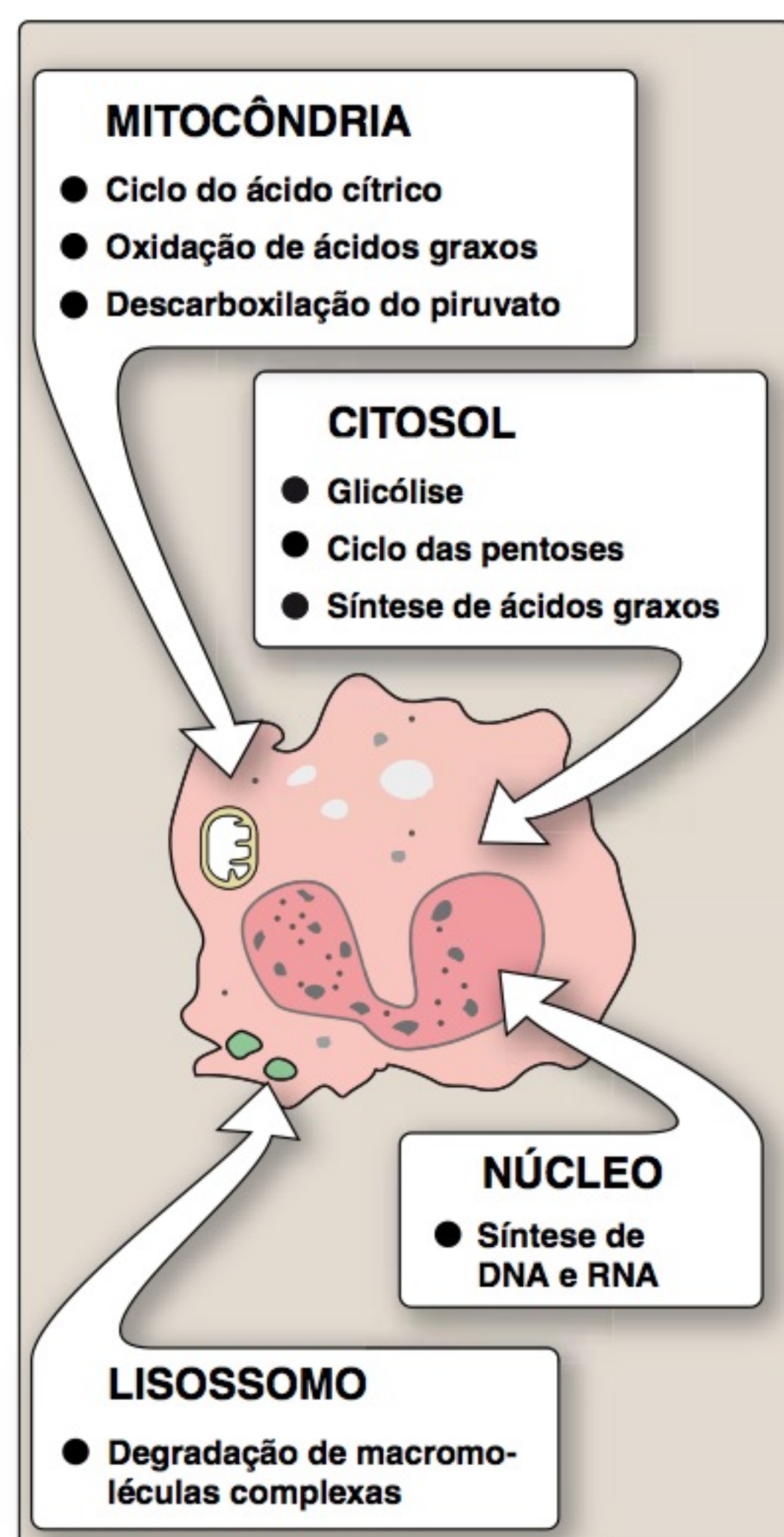
As reações catalisadas por enzimas são, em sua maioria, altamente eficientes, ocorrendo de 10^3 até 10^8 vezes mais rapidamente que as reações não catalisadas. O número de moléculas de substrato convertidas em moléculas de produto por uma molécula de enzima em um segundo é chamado de número de renovação (*turnover*) ou K_{cat} e tipicamente está na faixa de 10^2 a $10^4 s^{-1}$.

C. Especificidade

As enzimas são altamente específicas, interagindo com um ou alguns poucos substratos e catalisando apenas um tipo de reação química. (Nota: o conjunto de enzimas produzidas por uma determinada célula define quais as vias metabólicas que irão ocorrer nesta célula.)

D. Holoenzimas

Algumas enzimas precisam de outras moléculas além da proteína para sua atividade enzimática. O termo holoenzima se refere à enzima ativa com seu componente não proteico, enquanto a enzima sem seu componente não proteico é chamada de apoenzima e é inativa. Se esse componente não proteico for um íon metálico como Zn^{2+} ou Fe^{2+} , ele é chamado de cofator. Se esse componente for uma molécula orgânica pequena, é chamado de coenzima. As coenzimas que se associam transitoriamente com a enzima são chamadas de cossustratos, os quais se dissociam da enzima de forma alterada (um exemplo é o NAD^+ , veja a p. 101). Se a coenzima

**Figura 5.3**

Localização intracelular de algumas vias bioquímicas importantes.

estiver permanentemente associada à enzima e retornar a seu estado original, é chamada de grupo prostético (o FAD é um exemplo, veja a p. 110). As coenzimas frequentemente são derivadas de vitaminas. Por exemplo, o NAD⁺ contém niacina e o FAD contém riboflavina (veja o Capítulo 28).

E. Regulação

A atividade enzimática pode ser regulada, isto é, as enzimas podem ser ativadas ou inibidas, a fim de que a velocidade de formação do produto responda às necessidades da célula.

F. Localização dentro da célula

Muitas enzimas estão localizadas em organelas específicas dentro da célula (Figura 5.3). Essa compartimentalização serve para isolar o substrato ou o produto da reação de outras reações competitivas. Isso garante um meio favorável para a reação e organiza as milhares de enzimas presentes na célula em vias definidas.

IV. COMO FUNCIONAM AS ENZIMAS

O mecanismo da ação enzimática pode ser visualizado a partir de duas perspectivas diferentes. A primeira aborda a catálise em termos das alterações de energia que ocorrem durante a reação, ou seja, as enzimas fornecem uma rota de reação alternativa, energeticamente favorável, diferente da reação não catalisada. A segunda perspectiva descreve como o sítio ativo facilita quimicamente a catálise.

A. Alterações de energia que ocorrem durante a reação

Praticamente todas as reações químicas têm uma barreira de energia separando os reagentes dos produtos. Essa barreira, denominada energia livre de ativação, é a diferença entre a energia dos reagentes e aquela de um intermediário de alta energia, que ocorre durante a formação do produto. Por exemplo, a Figura 5.4 mostra as alterações na energia durante a conversão de uma molécula do reagente A no produto B, passando pelo estado de transição (intermediário de alta energia), T*:



- 1. Energia livre de ativação.** O pico de energia na Figura 5.4 é a diferença na energia livre entre o reagente e T*, onde um intermediário rico em energia é formado durante a conversão do reagente em produto. Devido à grande energia livre de ativação, as velocidades das reações químicas não catalisadas são frequentemente lentas.
- 2. Velocidade da reação.** Para as moléculas reagirem, devem conter energia suficiente para superar a barreira de energia do estado de transição. Na ausência de uma enzima, somente uma pequena proporção da população de moléculas possui energia suficiente para atingir o estado de transição entre reagente e produto. A velocidade da reação é determinada pelo número dessas moléculas “energizadas”. Em geral, quanto menor a energia livre de ativação, mais moléculas têm energia suficiente para superar o estado de transição e, assim, mais rápida é a velocidade da reação.
- 3. Rota alternativa de reação.** Uma enzima permite que uma reação ocorra rapidamente nas condições normais na célula, oferecendo uma rota de reação alternativa, com uma menor energia livre de ativação

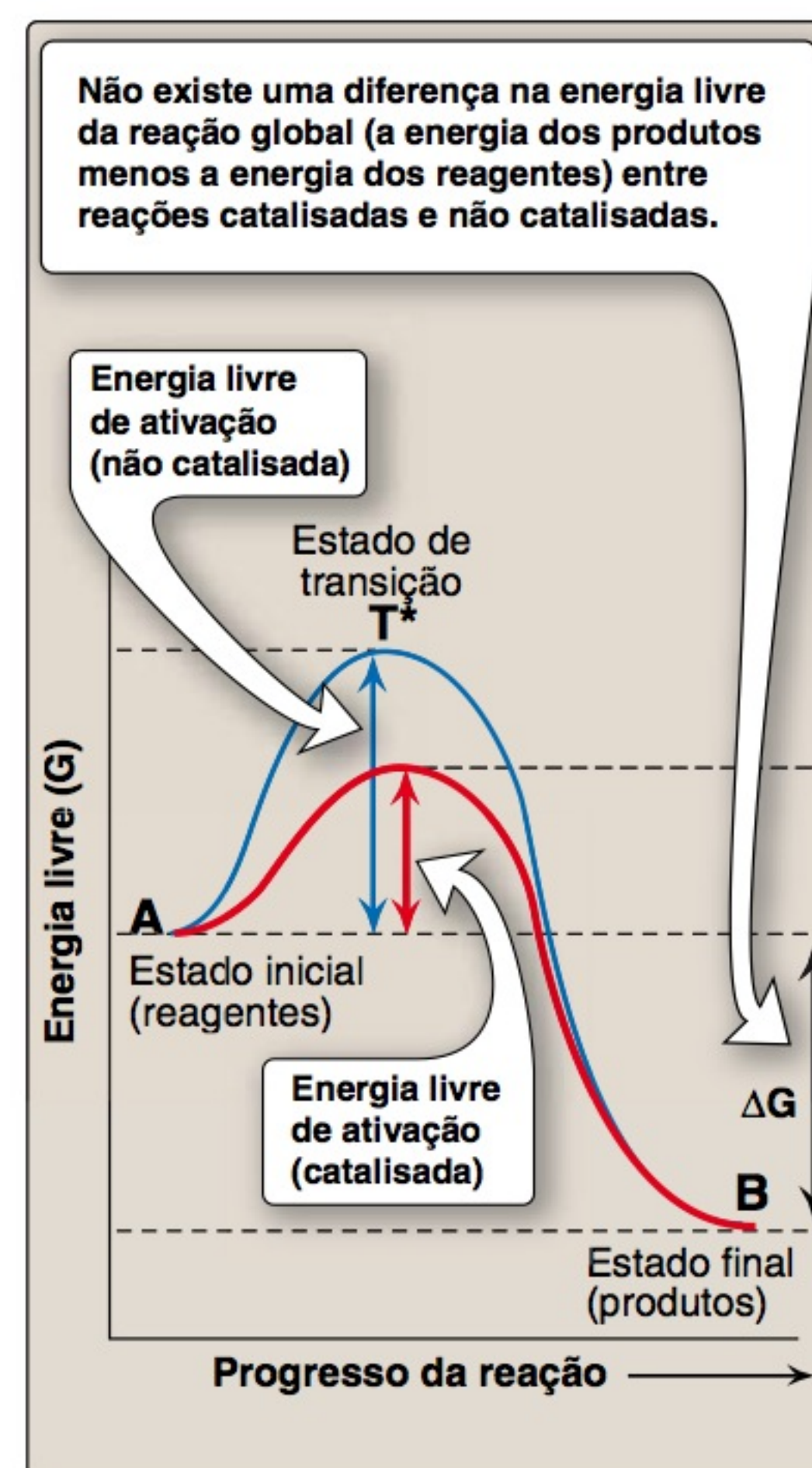


Figura 5.4

Efeito de uma enzima sobre a energia de ativação de uma reação.

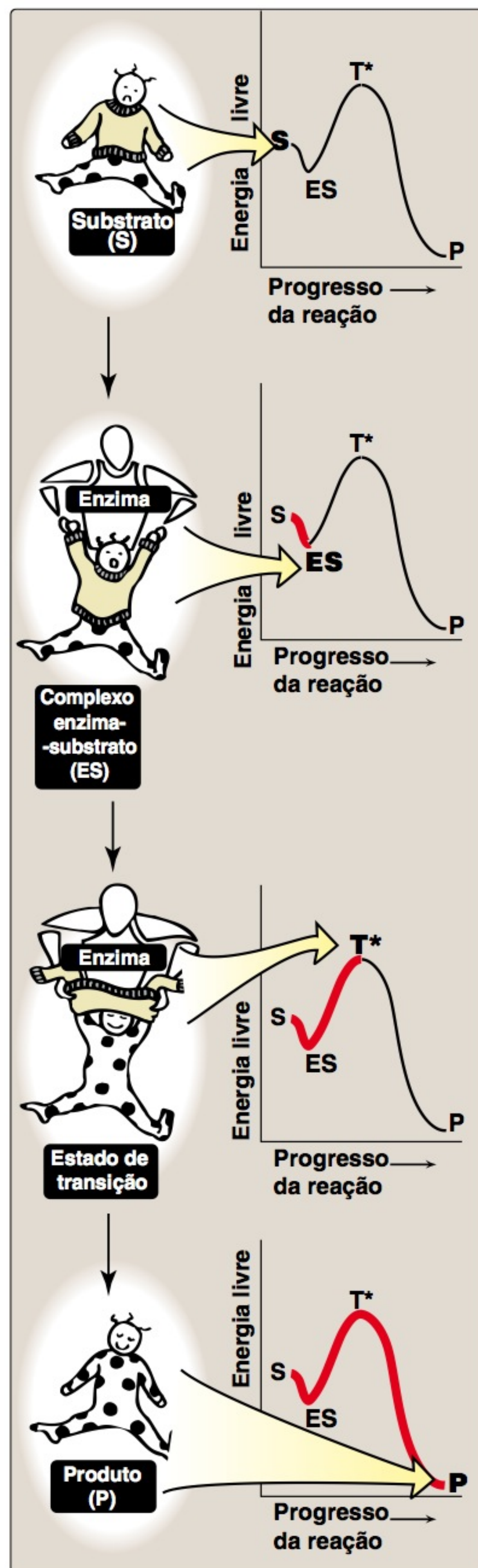


Figura 5.5

Representação esquemática de mudanças energéticas que acompanham a formação do complexo enzima-substrato e a subsequente formação de um estado de transição.

(Figura 5.4). A enzima não altera a energia livre dos reagentes ou dos produtos e, assim sendo, não altera o equilíbrio da reação (veja a p. 71). Entretanto, ela acelera a velocidade na qual o equilíbrio é atingido.

B. Química do sítio ativo

O sítio ativo não é um receptáculo passivo para a ligação do substrato, mas sim uma máquina molecular complexa, empregando uma diversidade de mecanismos químicos para facilitar a conversão do substrato em produto. Diversos fatores são responsáveis pela eficiência catalítica das enzimas, entre eles:

1. **Estabilização do estado de transição.** O sítio ativo frequentemente atua como um molde molecular flexível, que se liga ao substrato e inicia sua conversão para o estado de transição, uma estrutura na qual as ligações não são iguais àsquelas do substrato ou do produto (veja T^* na parte superior da curva na Figura 5.4). Estabilizando o estado de transição, a enzima aumenta muito a concentração do intermediário reativo que pode ser convertido no produto e, assim, acelera a reação.
2. **Outros mecanismos.** O sítio ativo pode fornecer grupos catalíticos que aumentam a probabilidade de o estado de transição se formar. Em algumas enzimas, esses grupos podem participar em uma catálise acidobásica geral, na qual os resíduos de aminoácidos doam ou aceitam prótons. Em outras enzimas, a catálise pode envolver a formação transitória de um complexo covalente enzima-substrato (ES). (Nota: o mecanismo de ação da quimotripsina, uma enzima da digestão proteica presente no intestino, inclui catálise ácida geral, básica geral e covalente. Uma histidina presente no sítio ativo da enzima recebe (básica geral) ou perde (ácida geral) prótons, o que é possibilitado pelo fato de que o pK da histidina nas proteínas é próximo ao pH fisiológico. Uma serina, também presente no sítio ativo, forma uma ligação covalente com o substrato.)
3. **Visualização do estado de transição.** A conversão do substrato em produto, catalisada por enzimas, pode ser imaginada como remoção de um suéter de um bebê não cooperativo (Figura 5.5). O processo possui elevada energia de ativação, pois a única estratégia razoável para tirar a roupa (exceto rasgá-la) requer que a agitação aleatória do bebê resulte em uma posição em que os dois braços fiquem completamente estendidos acima da cabeça – uma postura improvável. Entretanto, podemos visualizar a mãe agindo como enzima, primeiro entrando em contato com o bebê (formando o complexo ES) e, a seguir, orientando os braços do bebê para uma posição vertical e estendida, análoga ao estado de transição ES. Essa postura (conformação) facilita a remoção do suéter, resultando no bebê sem agasalho representando o produto. (Nota: o substrato ligado à enzima [ES] está em um nível energético ligeiramente menor que o substrato não ligado [S], o que explica a pequena “queda” na curva em ES.)

V. FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE DA REAÇÃO

As enzimas podem ser isoladas das células e ter suas propriedades estudadas em tubos de ensaio (i. e., *in vitro*). As diferentes enzimas mostram diferentes respostas às alterações de concentração de substrato, temperatura e pH. Esta seção descreve fatores que influenciam a velocidade da reação enzimática. As respostas enzimáticas a esses fatores fornecem informações valiosas acerca do funcionamento das enzimas nas células vivas (i. e., *in vivo*).

A. Concentração do substrato

1. **Velocidade máxima.** A velocidade de uma reação (v) é o número de moléculas de substrato convertidas em produto por unidade de tempo; geralmente, a velocidade é expressa como μmol de produto formado por minuto. A velocidade de uma reação catalisada por enzima aumenta com a concentração do substrato, até uma velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$) ser atingida (Figura 5.6). A obtenção de um platô na velocidade de reação em altas concentrações de substrato reflete a saturação, pelo substrato, de todos os sítios de ligação disponíveis nas moléculas enzimáticas presentes.
2. **Formato hiperbólico da curva de cinética enzimática.** A maioria das enzimas mostra uma cinética de Michaelis-Menten (veja a p. 58), na qual a curva de velocidade de reação inicial (v_0) em função da concentração do substrato ($[S]$) possui forma hiperbólica (semelhante à curva de dissociação do oxigênio da mioglobina; veja a p. 29). Em contraste, as enzimas alostéricas não seguem a cinética de Michaelis-Menten e frequentemente mostram uma curva sigmoide (veja a p. 62), semelhante na forma à curva de dissociação do oxigênio da hemoglobina (veja a p. 29).

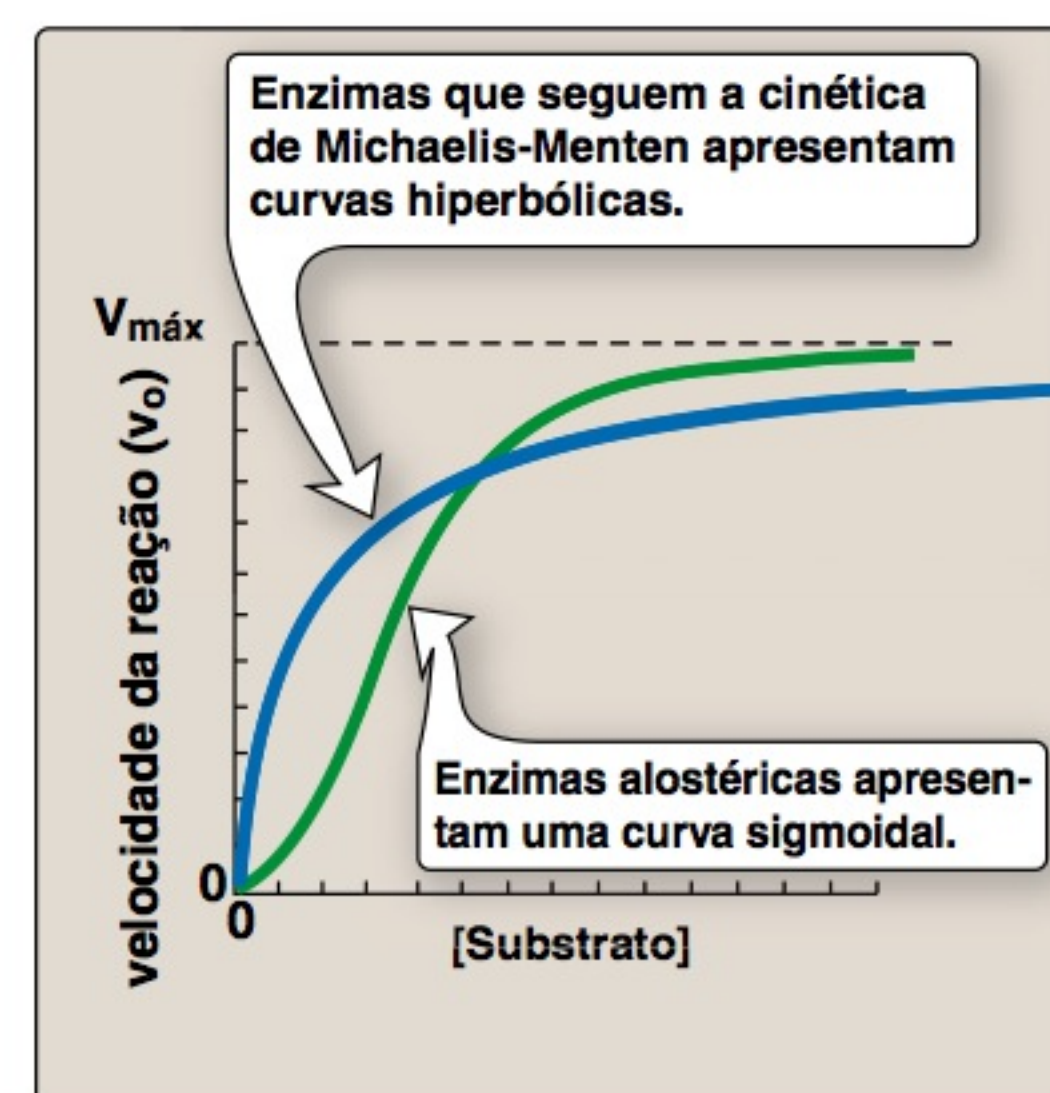


Figura 5.6

Efeito da concentração do substrato sobre a velocidade da reação.

B. Temperatura

1. **Aumento da velocidade com a temperatura.** A velocidade de reação aumenta com a temperatura, até um pico de velocidade ser atingido (Figura 5.7). Isso ocorre devido ao aumento do número de moléculas com energia suficiente para atravessar a barreira da energia de ativação e formar os produtos da reação.
2. **Diminuição da velocidade com temperaturas mais altas.** Uma elevação maior da temperatura resulta em redução na velocidade de reação como resultado da desnaturação da enzima, induzida pela temperatura (Figura 5.7).

A temperatura ótima para a maioria das enzimas humanas está entre 35 e 40 °C. As enzimas humanas começam a desnaturar em temperaturas acima de 40 °C, porém, as enzimas de bactérias termófilas, encontradas em fontes de água quente, apresentam temperatura ótima em torno de 70 °C.

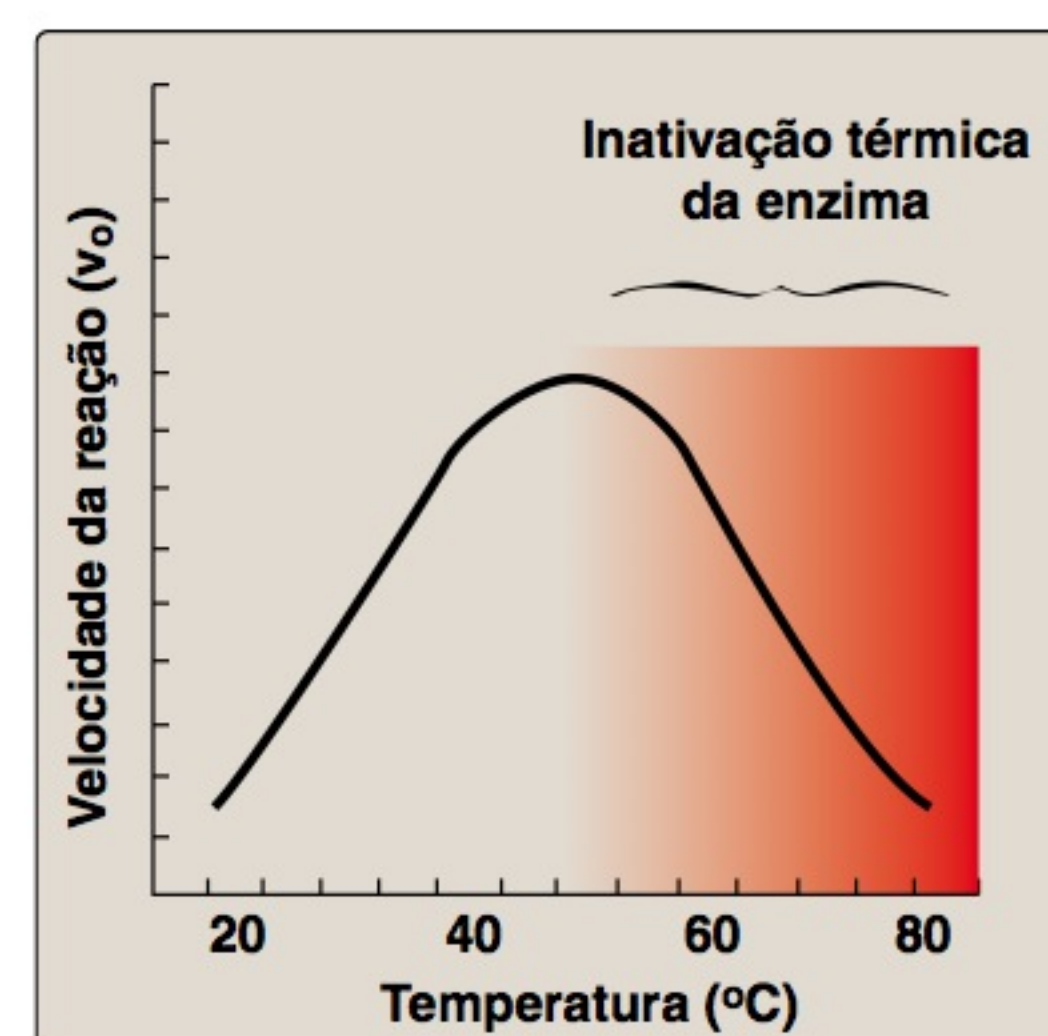


Figura 5.7

Efeito da temperatura sobre uma reação catalisada por enzima.

C. pH

1. **Efeito do pH sobre a ionização do sítio ativo.** A concentração de H^+ afeta a velocidade da reação de várias maneiras. Primeiro, o processo catalítico geralmente requer que a enzima e o substrato tenham determinados grupos químicos em estado ionizado ou não ionizado de modo a interagirem. Por exemplo, a atividade catalítica pode exigir que um grupo amino da enzima esteja na forma protonada ($-NH_3^+$). Em pH alcalino, esse grupo não está protonado e, assim, a velocidade da reação diminui.
2. **Efeito do pH sobre a desnaturação da enzima.** Valores extremos de pH também podem levar à desnaturação da enzima, pois a estrutura da molécula proteica cataliticamente ativa depende do caráter iônico das cadeias laterais dos aminoácidos.

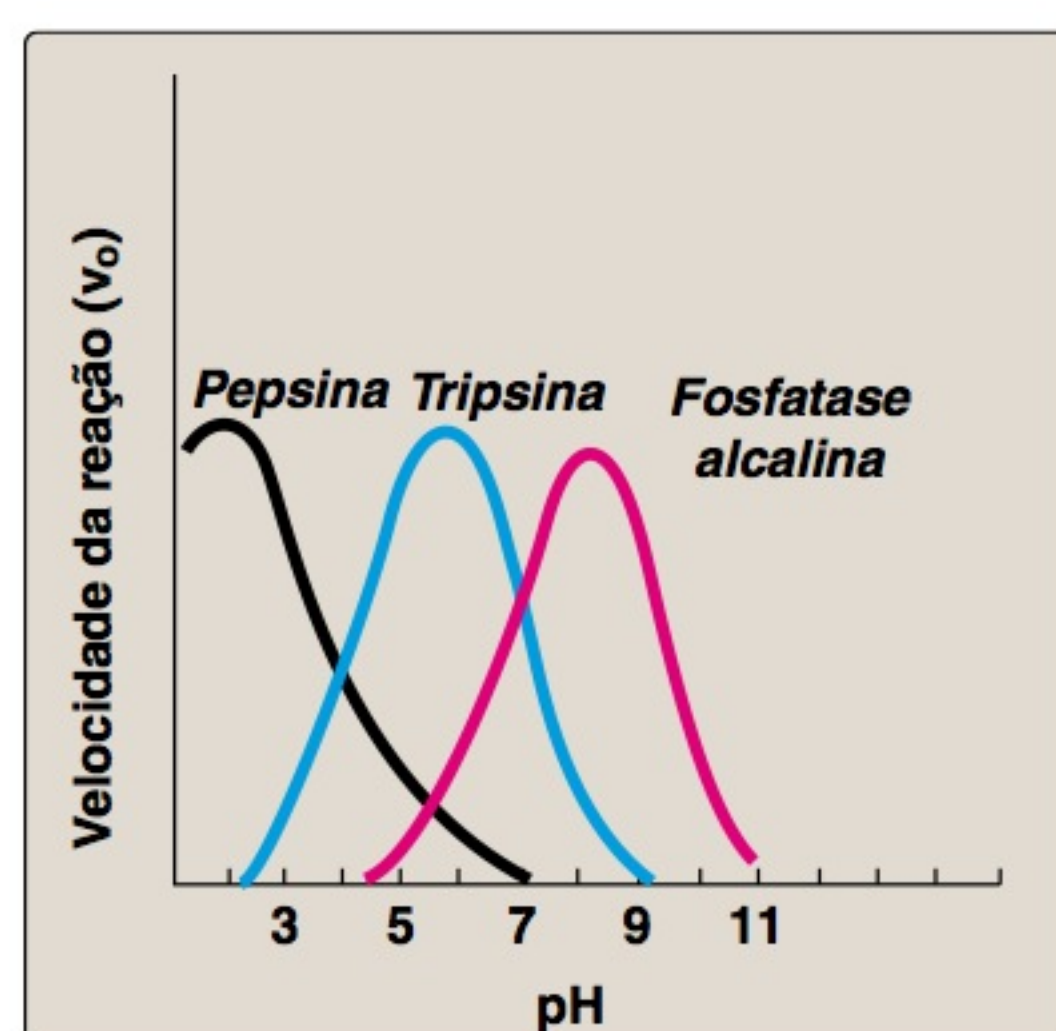


Figura 5.8

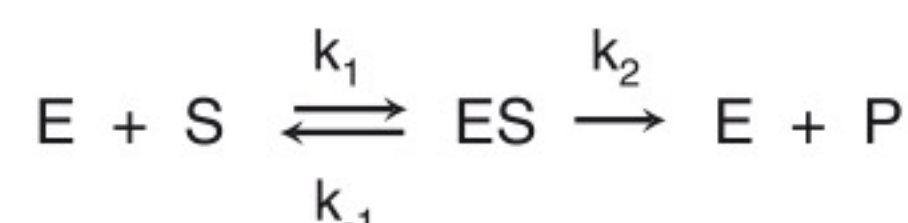
Efeito do pH sobre reações catalisadas por enzimas.

3. **O pH ótimo varia de acordo com a enzima.** O pH no qual a atividade máxima da enzima é atingida difere para cada enzima e, geralmente, reflete a $[H^+]$ na qual a enzima funciona no organismo. Por exemplo, a pepsina, uma enzima digestiva do estômago, apresenta atividade máxima em pH 2, enquanto outras enzimas, destinadas a funcionar em pH neutro, desnaturam em meio com essa acidez (Figura 5.8).

VI. EQUAÇÃO DE MICHAELIS-MENTEN

A. Modelo de reação

Leonor Michaelis e Maude Menten propuseram um modelo simples, que explica a maioria das características das reações catalisadas por enzimas. Nesse modelo, a enzima combina-se reversivelmente com o substrato, formando um complexo ES que, subsequentemente, gera o produto, regenerando a enzima livre. O modelo, envolvendo uma molécula de substrato, é representado a seguir:



onde S é o substrato
E é a enzima
ES é o complexo enzima-substrato
P é o produto
 k_1 , k_{-1} e k_2 são constantes de velocidade

B. Equação de Michaelis-Menten

A equação de Michaelis-Menten descreve como a velocidade da reação varia com a concentração do substrato:

$$v_0 = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_m + [S]}$$

onde v_0 = velocidade inicial da reação
 $V_{\text{máx}}$ = velocidade máxima
 K_m = constante de Michaelis-Menten = $(k_{-1} + k_2)/k_1$
 $[S]$ = concentração do substrato

Ao derivar-se a equação de velocidade de Michaelis-Menten, são feitas as considerações a seguir.

1. **Concentrações relativas de E e S.** A concentração de substrato ($[S]$) é muito maior do que a concentração da enzima ($[E]$), de modo que a porcentagem de substrato total ligado à enzima em qualquer momento é pequena.
2. **Hipótese do estado estacionário.** A $[ES]$ não varia com o tempo (hipótese do estado estacionário para ES), isto é, a velocidade de formação de ES é igual àquela da degradação de ES (para $E + S$ e para $E + P$). Em geral, um intermediário em uma série de reações é considerado em estado estacionário quando sua velocidade de síntese é igual a sua velocidade de degradação.

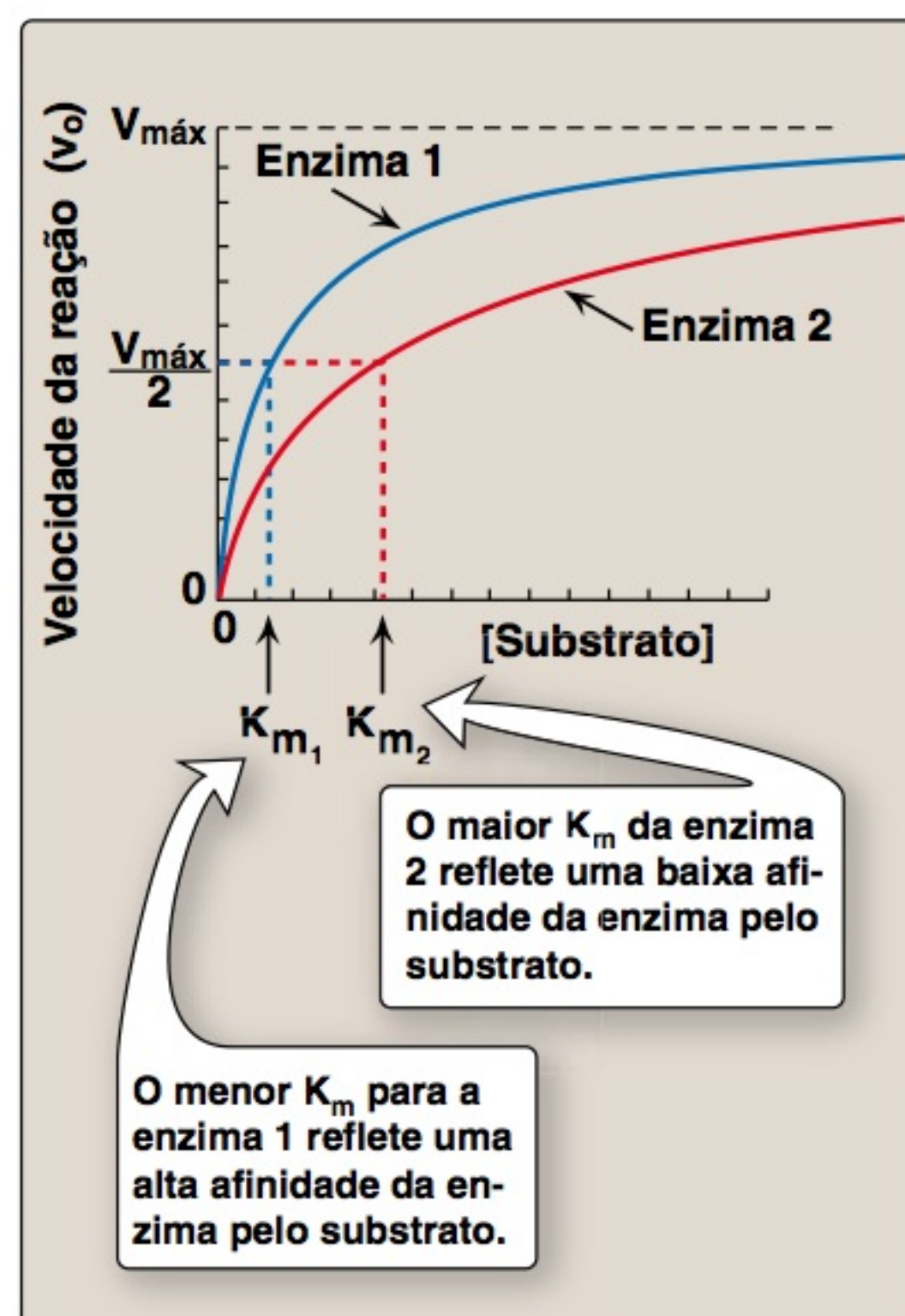


Figura 5.9

Efeito da concentração do substrato sobre a velocidade de reação para duas enzimas: enzima 1 com um K_m menor e enzima 2 com um K_m maior.

- 3. Velocidade inicial.** As velocidades iniciais da reação (v_o) são utilizadas na análise das reações enzimáticas. Isso significa que a velocidade da reação é medida assim que a enzima e o substrato são misturados. Nesse momento, a concentração de produto é muito pequena e, assim sendo, a velocidade da reação inversa de P para S pode ser ignorada.

C. Conclusões importantes acerca da cinética de Michaelis-Menten

- 1. Características do K_m .** O K_m – constante de Michaelis-Menten – é característico da enzima e de seu substrato específico e reflete a afinidade da enzima por esse substrato. O K_m é numericamente igual à concentração do substrato em que a velocidade da reação é igual a $\frac{1}{2}V_{m\acute{a}x}$. O K_m não varia com a concentração da enzima.
 - a. K_m baixo.** Um K_m numericamente pequeno reflete alta afinidade da enzima pelo substrato, pois uma baixa concentração de substrato é necessária para atingir a metade da saturação da enzima – isto é, atingir a velocidade de $\frac{1}{2}V_{m\acute{a}x}$ (Figura 5.9).
 - b. K_m alto.** Um K_m grande (numericamente elevado) reflete baixa afinidade da enzima pelo substrato, pois é necessária uma alta concentração de substrato para atingir a metade da saturação da enzima.
- 2. Relação entre a velocidade e a concentração da enzima.** A velocidade da reação é diretamente proporcional à concentração da enzima em qualquer concentração de substrato. Por exemplo, se a concentração da enzima é reduzida pela metade, a velocidade inicial da reação (v_o), assim como a $V_{m\acute{a}x}$, são reduzidas à metade da velocidade original.
- 3. Ordem de reação.** Quando a $[S]$ é muito menor que o K_m , a velocidade da reação é aproximadamente proporcional à concentração do substrato (Figura 5.10). A velocidade da reação é, então, dita de primeira ordem com relação ao substrato. Quando a $[S]$ é muito maior do que o K_m , a velocidade é constante e igual à $V_{m\acute{a}x}$. A velocidade da reação, nesse caso, é independente da concentração de substrato e é dita de ordem zero em relação à concentração de substrato (Figura 5.10).

D. Gráfico de Lineweaver-Burk

Quando a v_o é colocada em um gráfico em função da $[S]$, nem sempre é possível determinar quando a $V_{m\acute{a}x}$ é alcançada, devido à inclinação gradual da curva hiperbólica em altas concentrações de substrato. Entretanto, em uma curva de $1/v_o$ contra $1/[S]$, obtém-se uma linha reta (Figura 5.11). Esse gráfico de Lineweaver-Burk (também chamado de gráfico dos duplos-recíprocos) pode ser utilizado para calcular K_m e $V_{m\acute{a}x}$, assim como para determinar o mecanismo de ação de inibidores enzimáticos.

1. A equação que descreve o gráfico de Lineweaver-Burk é:

$$\frac{1}{v_o} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

onde o intercepto no eixo x é igual a $-1/K_m$ e o intercepto no eixo y é igual a $1/V_{m\acute{a}x}$.

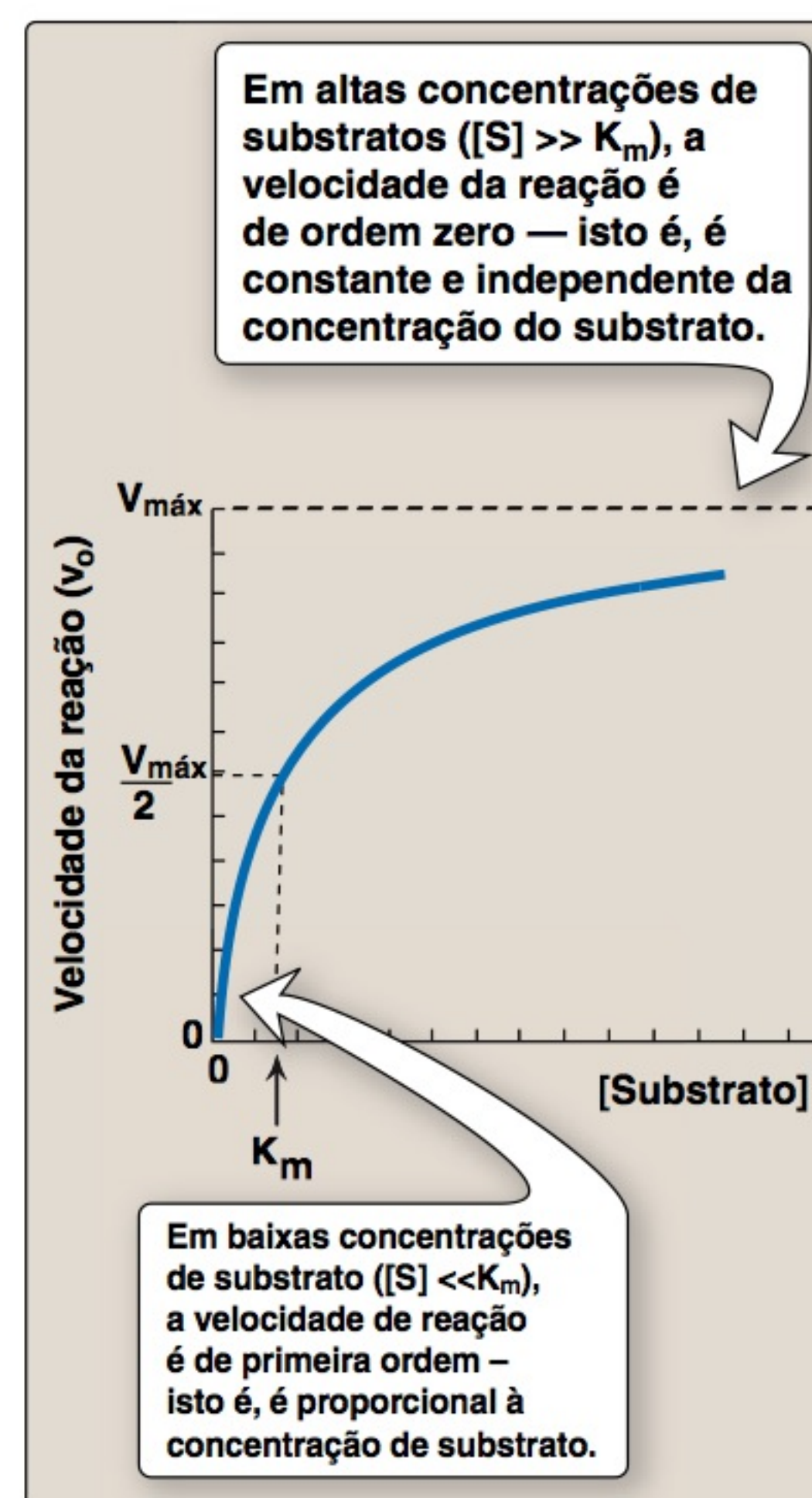


Figura 5.10

Efeito da concentração do substrato sobre a velocidade da reação, para uma reação catalisada por enzima.

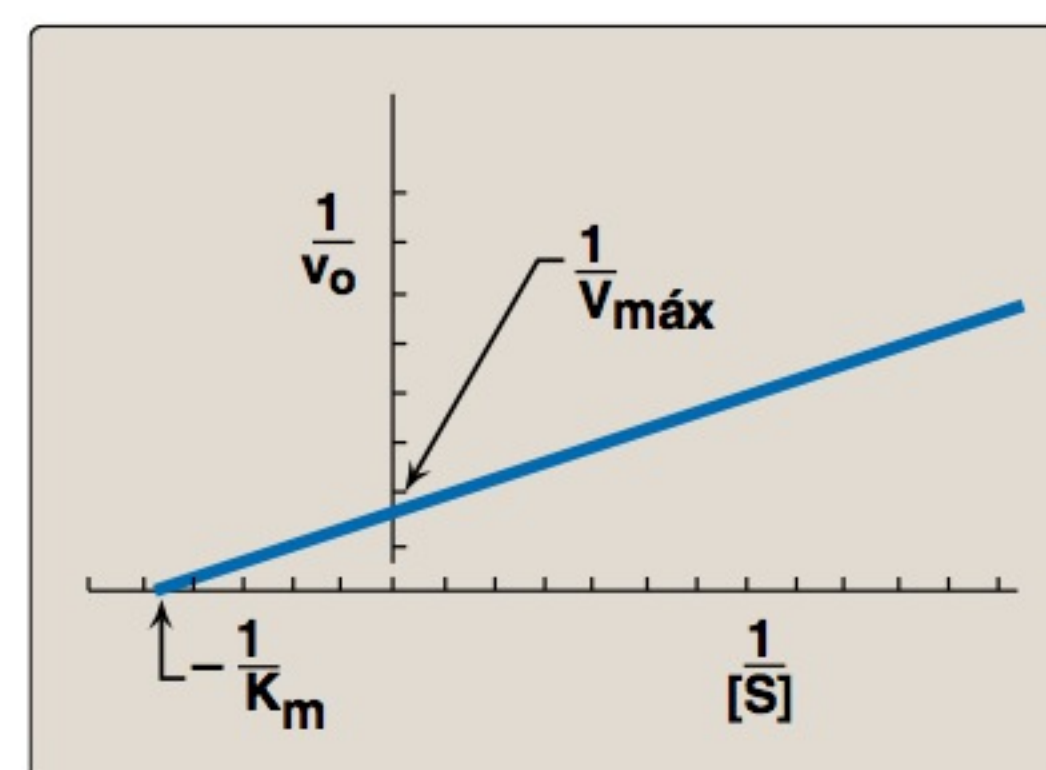


Figura 5.11

Gráfico de Lineweaver-Burke.

VII. INIBIÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Qualquer substância que possa diminuir a velocidade das reações catalisadas por enzimas é chamada de inibidor. Em geral, inibidores irreversíveis ligam-se às enzimas por meio de ligações covalentes. Inibidores reversíveis ligam-se às enzimas por meio de ligações não covalentes, de modo que a diluição do complexo enzima-inibidor resulta na dissociação do inibidor reversivelmente ligado e na recuperação da atividade enzimática. Os dois tipos mais comuns de inibição reversível são a inibição competitiva e a inibição não competitiva.

A. Inibição competitiva

Esse tipo de inibição ocorre quando o inibidor liga-se reversivelmente ao mesmo sítio que o substrato normalmente ocuparia e, dessa forma, compete com o substrato por esse sítio.

1. **Efeito sobre a $V_{\text{máx}}$.** O efeito de um inibidor competitivo é revertido pelo aumento da $[S]$. Em concentrações de substrato suficientemente altas, a velocidade da reação atinge a $V_{\text{máx}}$ observada na ausência do inibidor (Figura 5.12).
2. **Efeito sobre o K_m .** Um inibidor competitivo aumenta o K_m aparente para determinado substrato. Isso significa que, na presença de um inibidor competitivo, mais substrato é necessário para atingir $\frac{1}{2}V_{\text{máx}}$.
3. **Efeito sobre o gráfico de Lineweaver-Burk.** A inibição competitiva apresenta um gráfico de Lineweaver-Burk característico, no qual as curvas da reação inibida e não inibida interceptam o eixo y no mesmo ponto, em $1/V_{\text{máx}}$ ($V_{\text{máx}}$ não é alterada). As reações inibida e não inibida interceptam o eixo x em pontos diferentes, indicando que o K_m aparente é aumentado na presença do inibidor competitivo, uma vez que seu $-1/K_m$ aproxima-se do zero a partir de um valor inicialmente mais negativo (Figura 5.12).
4. **Estatinas como exemplos de inibidores competitivos.** Esse grupo de substâncias anti-hiperlipidêmicas inibe competitivamente o primeiro

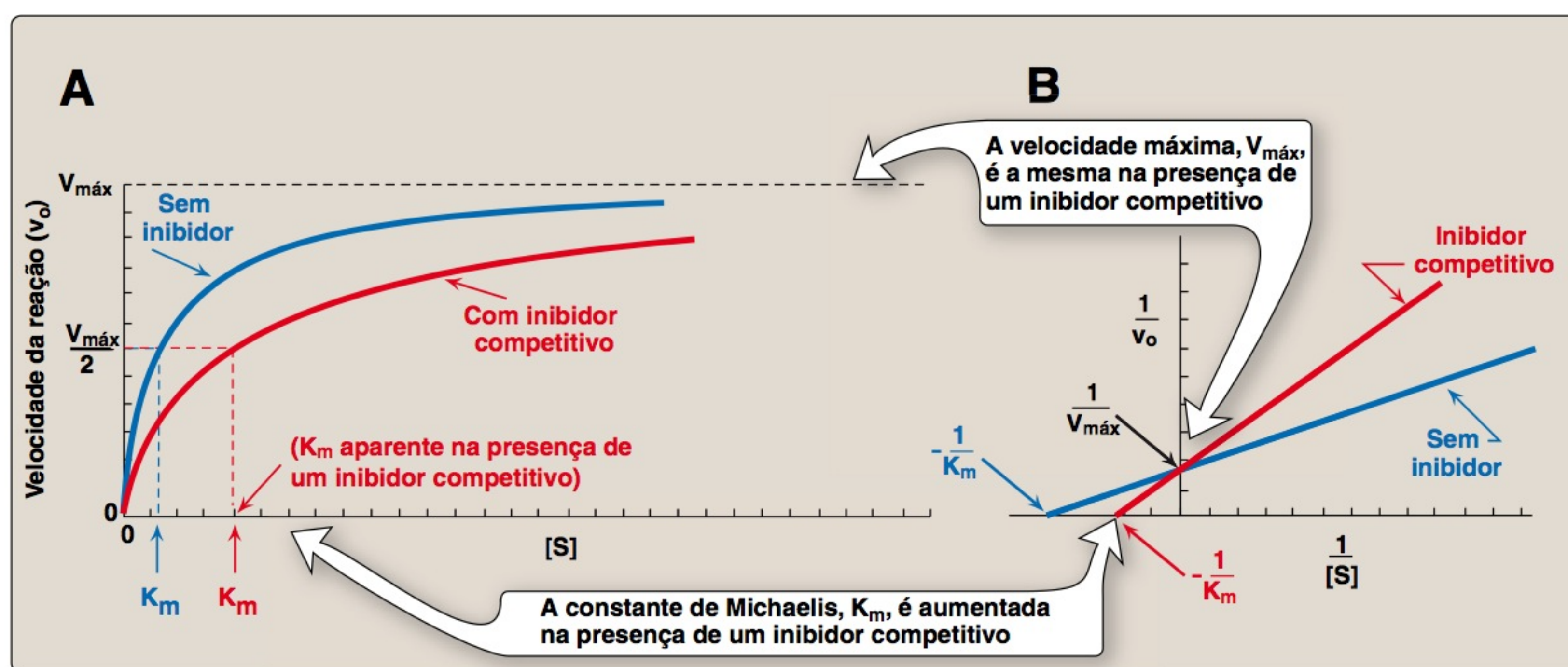


Figura 5.12

A. Gráfico do efeito de um inibidor competitivo sobre a velocidade da reação (v_o) versus substrato $[S]$. B. Gráfico de Lineweaver-Burke para a inibição competitiva de uma enzima.

passo comprometido com a síntese do colesterol. A reação é catalisada pela *hidroximetilglutaril-CoA-redutase* (*HMG-CoA-redutase*, veja a p. 220). As estatinas, tais como a atorvastatina (Lipitor) e a pravastatina (Pravancol)¹, são análogos estruturais do substrato natural dessa enzima e com ele competem, levando à efetiva inibição da *HMG-CoA-redutase*. Dessa forma, elas inibem a síntese de novo do colesterol e, assim, diminuem os níveis plasmáticos desse lipídeo (Figura 5.13).

B. Inibição não competitiva*

Esse tipo de inibição pode ser reconhecido por seu efeito característico sobre a $V_{\text{máx}}$ (Figura 5.14). A inibição não competitiva acontece quando o inibidor e o substrato ligam-se a sítios diferentes na enzima. O inibidor não competitivo pode ligar-se tanto à enzima livre quanto ao complexo ES, de modo a impedir que a reação ocorra (Figura 5.15).

1. **Efeito sobre a $V_{\text{máx}}$.** A inibição não competitiva não pode ser superada pelo aumento da concentração de substrato. Desse modo, os inibidores não competitivos diminuem a $V_{\text{máx}}$ aparente da reação.
2. **Efeito sobre o K_m .** Os inibidores não competitivos não interferem na ligação do substrato com a enzima. Assim, a enzima mostra o mesmo K_m na presença e na ausência do inibidor não competitivo.
3. **Efeito sobre o gráfico de Lineweaver-Burk.** A inibição não competitiva é facilmente diferenciada da inibição competitiva pela curva de $1/v_0$.

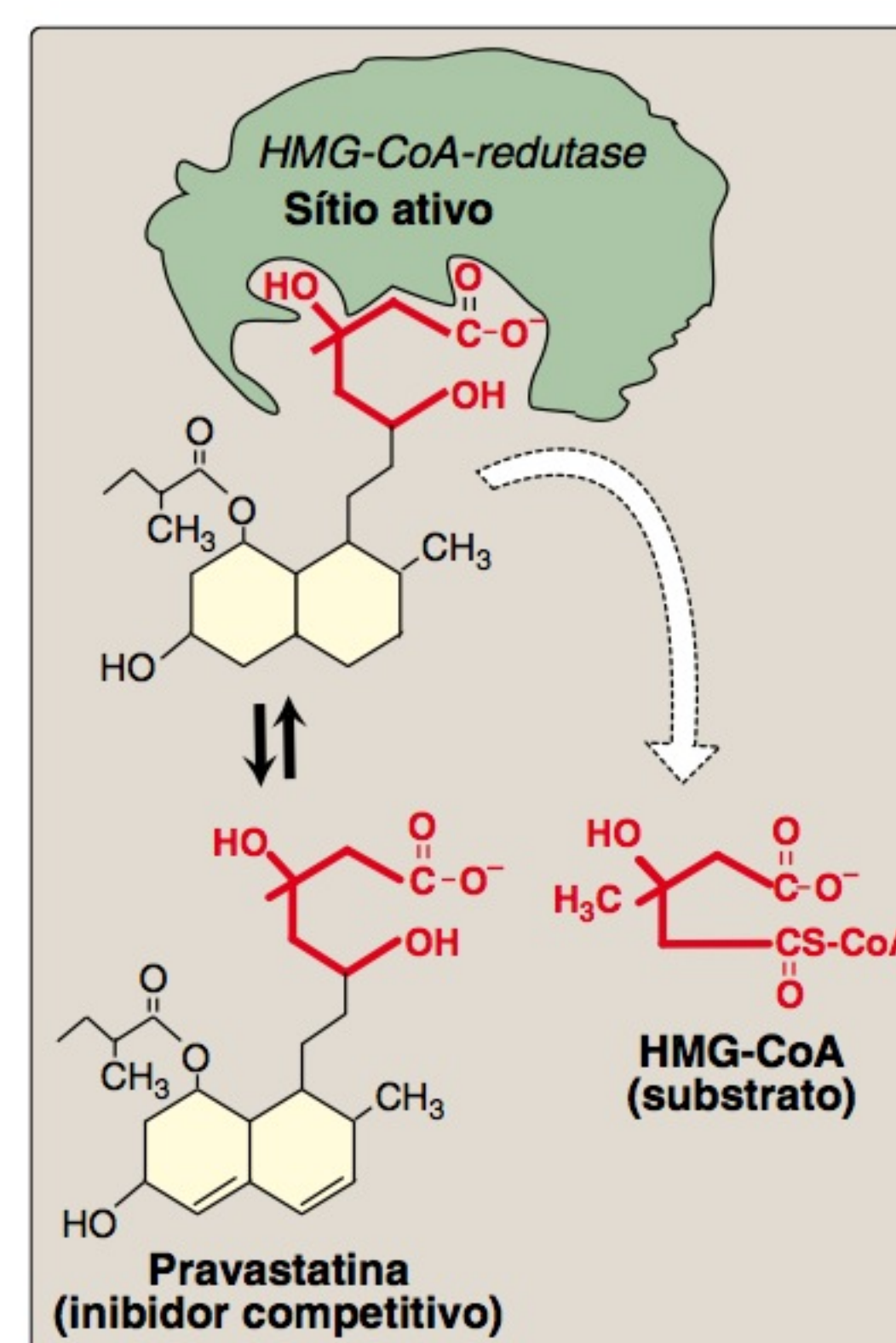


Figura 5.13

A pravastatina compete com o HMG-CoA pelo sítio ativo da *HMG-CoA-redutase*.

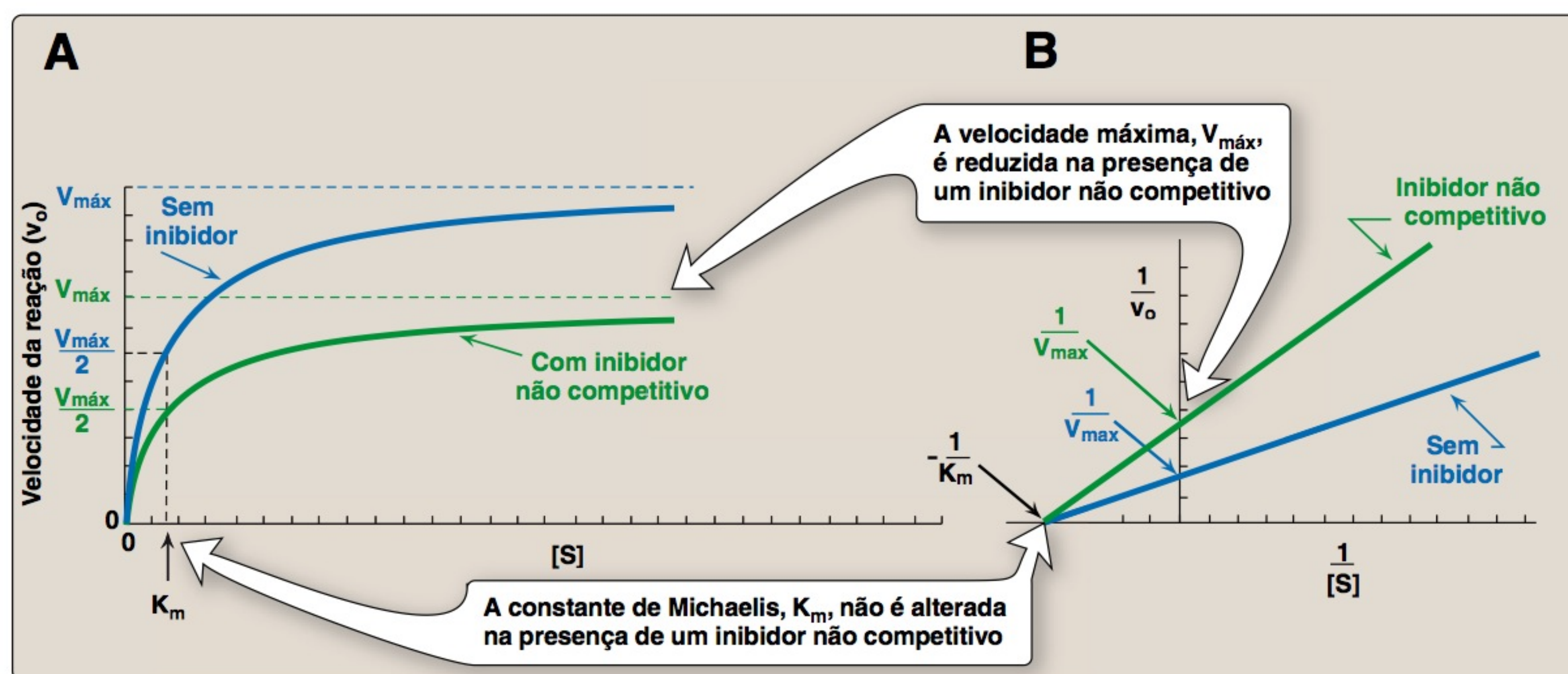


Figura 5.14

A. Gráfico do efeito de um inibidor não competitivo sobre a velocidade da reação (v_0) versus concentração de substrato $[S]$. B. Gráfico de Lineweaver-Burke para a inibição não competitiva de uma enzima.



¹Veja o Capítulo 21 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão mais detalhada sobre os fármacos utilizados para tratar a hiperlipidemia.

* N. de T. Os autores apresentam uma classificação bastante simplificada desses inibidores enzimáticos. Para definições mais precisas dos diferentes tipos de inibidores, o leitor poderá procurar em outros textos de bioquímica.

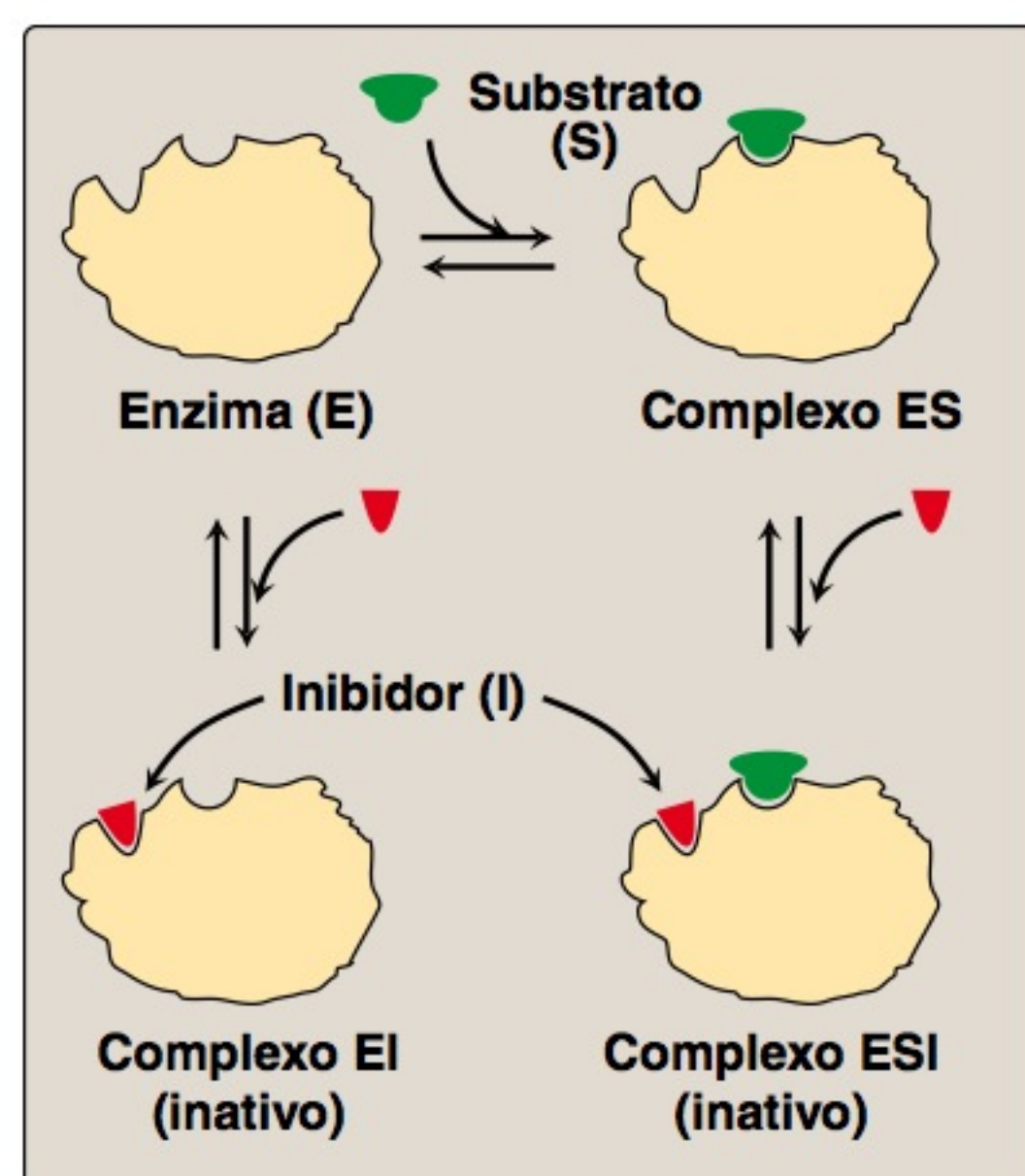


Figura 5.15

Um inibidor não competitivo ligando-se à enzima e ao complexo enzima-substrato.

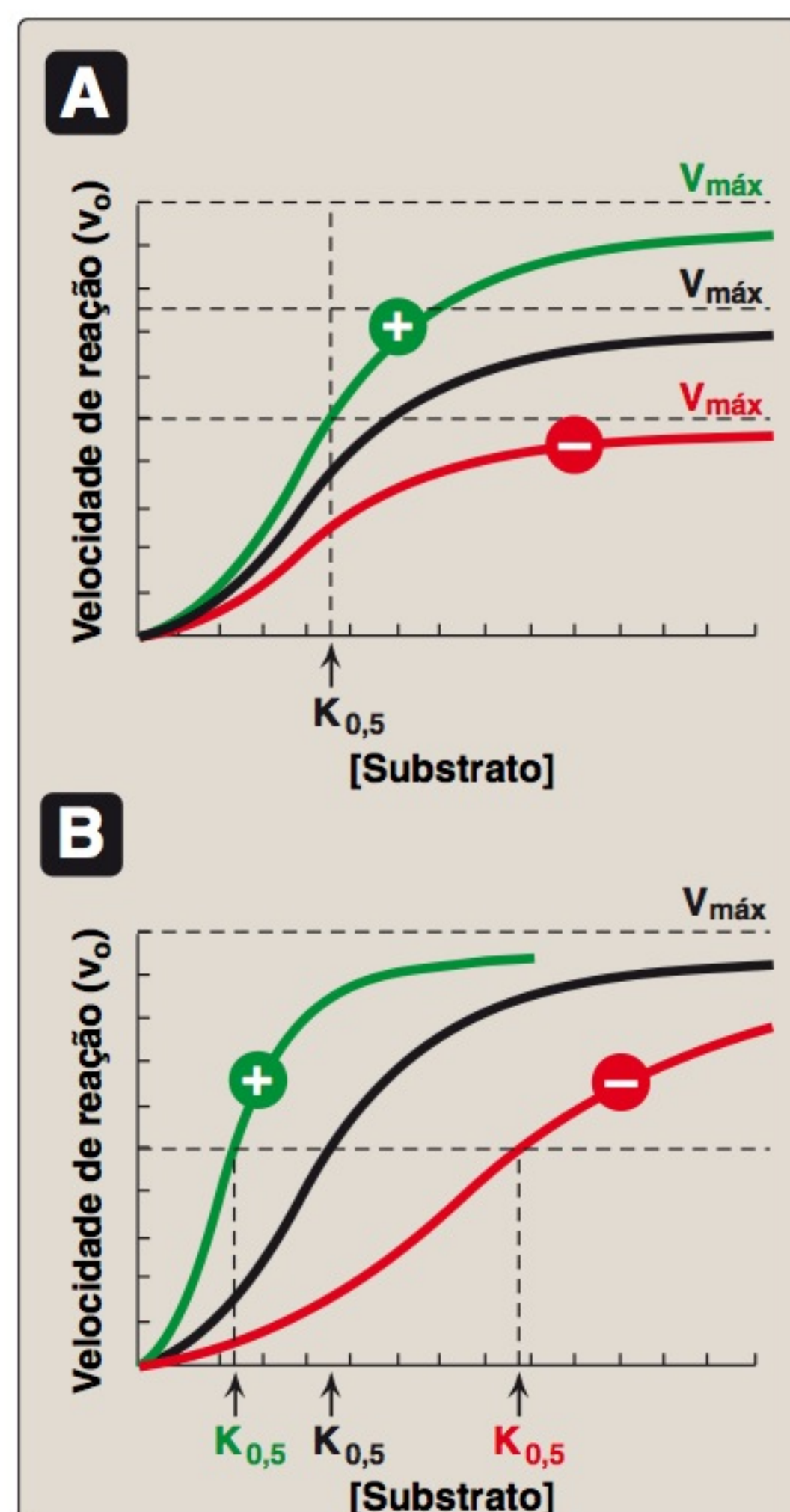


Figura 5.16

Efeito de efetor negativo $-$ ou positivo $+$ sobre uma enzima alostérica. A. A $V_{máx}$ é alterada. B. A concentração de substrato que dá metade da velocidade máxima ($K_{0,5}$) é alterada.

contra $1/[S]$, onde a $V_{máx}$ aparente diminui na presença de um inibidor não competitivo, enquanto o K_m não é alterado (Figura 5.14).

4. **Exemplos de inibidores não competitivos.** Alguns inibidores agem pela formação de ligações covalentes com grupos específicos da enzima. Por exemplo, o chumbo forma ligações covalentes com os grupos sulfidril da cadeia lateral da cisteína nas proteínas. A ligação do metal pesado mostra uma inibição não competitiva. A ferroquelatase, enzima que catalisa a inserção do Fe^{2+} na protoporfirina (precursor do grupo heme, veja a p. 279), é um exemplo de enzima sensível à inibição pelo chumbo. Outros exemplos de inibidores não competitivos são certos inseticidas, cujos efeitos neurotóxicos resultam de sua ligação covalente ao sítio catalítico da enzima acetilcolinesterase (enzima que cliva o neurotransmissor acetilcolina). (Nota: embora sejam formadas ligações covalentes, se a enzima ativa pode ser recuperada, a inibição é reversível.)

C. Inibidores enzimáticos como fármacos

Pelo menos metade dos 10 fármacos mais comumente prescritos nos Estados Unidos age por meio da inibição de enzimas. Por exemplo, os amplamente prescritos antibióticos β -lactâmicos, como a penicilina e amoxicilina,² atuam inibindo enzimas envolvidas na síntese da parede celular bacteriana. Alguns fármacos também podem agir inibindo reações extracelulares. Isso é ilustrado pelos inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), que diminuem a pressão sanguínea por bloquear a enzima que cliva a angiotensina I para formar um potente vasoconstritor, a angiotensina II.³ Esses fármacos, que incluem o captopril, o enalapril e o lisinopril, causam vasodilatação e, com isso, redução da pressão sanguínea.

VIII. REGULAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A regulação da velocidade das reações enzimáticas é essencial para o organismo coordenar seus numerosos processos metabólicos. As velocidades da maioria das reações enzimáticas respondem às mudanças na concentração dos substratos, pois o nível intracelular de muitos substratos se encontra na faixa do K_m . Dessa forma, um aumento na concentração do substrato provoca aumento da velocidade de reação, que induz o retorno da concentração do substrato ao valor normal. Além disso, algumas enzimas com funções reguladoras especializadas respondem a efetores alostéricos ou a modificações covalentes, ou ainda, apresentam sua velocidade de síntese (ou degradação) alterada quando as condições fisiológicas mudam.

A. Regulação das enzimas alostéricas

As enzimas alostéricas são reguladas por moléculas chamadas efetores (também chamadas moduladores), que se ligam de forma não covalente a outro sítio que não o sítio ativo. Normalmente, essas enzimas são compostas por subunidades múltiplas e o sítio regulatório (alostérico) que liga o efetor pode estar localizado em uma subunidade não catalítica. A presença de um efetor alostérico pode alterar a afinidade da enzima por seu substrato ou modificar a atividade catalítica máxima da enzima, ou ambos. Os efetores que inibem a atividade enzimática são denominados efetores ne-



²Veja o Capítulo 32 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca dos inibidores da síntese da parede celular bacteriana.

³Veja o Capítulo 19 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca dos inibidores da enzima conversora de angiotensina.

gativos, ao passo que aqueles que aumentam a atividade enzimática são denominados efetores positivos. As enzimas alostéricas frequentemente catalisam o passo comprometido com a via no início da rota metabólica.

1. **Efetores homotrópicos.** Quando o próprio substrato atua como efetor, o efeito é dito homotrópico. Um substrato alostérico funciona, mais frequentemente, como um efetor positivo. Nesse caso, a presença de uma molécula de substrato em um sítio da enzima aumenta as propriedades catalíticas de outros sítios de ligação ao substrato, isto é, seus sítios exibem cooperatividade. Essas enzimas apresentam curva sigmoide quando a velocidade de reação (v_o) é relacionada com a concentração de substrato ($[S]$) (Figura 5.16). Isso contrasta com a curva hiperbólica característica das enzimas que seguem a cinética de Michaelis-Menten, conforme discutido anteriormente. (Nota: o conceito de cooperatividade da ligação do substrato é análogo à ligação do oxigênio à hemoglobina.) Efetores positivos e negativos de enzimas alostéricas podem afetar tanto a $V_{\text{máx}}$ quanto o $K_{0,5}$ ou ambos (Figura 5.16).

2. **Efetores heterotrópicos.** O efetor pode ser diferente do substrato, caso em que o efeito é dito heterotrópico. Por exemplo, considere a inibição por retroalimentação mostrada na Figura 5.17. A enzima que converte D em E tem um sítio alostérico, ao qual se liga o produto final G. Se a concentração de G aumenta (por exemplo, se ele não é utilizado tão rapidamente como é sintetizado), a primeira etapa irreversível exclusiva da via é tipicamente inibida. A inibição por retroalimentação fornece à célula quantidades adequadas de um produto de que ela necessita, por meio da regulação do fluxo de moléculas de substrato na via que leva à síntese desse produto. Efetores heterotrópicos são facilmente encontrados; por exemplo, a enzima da via glicolítica *fosfofrutocinase-1* é alostericamente inibida por citrato, que não é substrato da enzima (veja a p. 99).

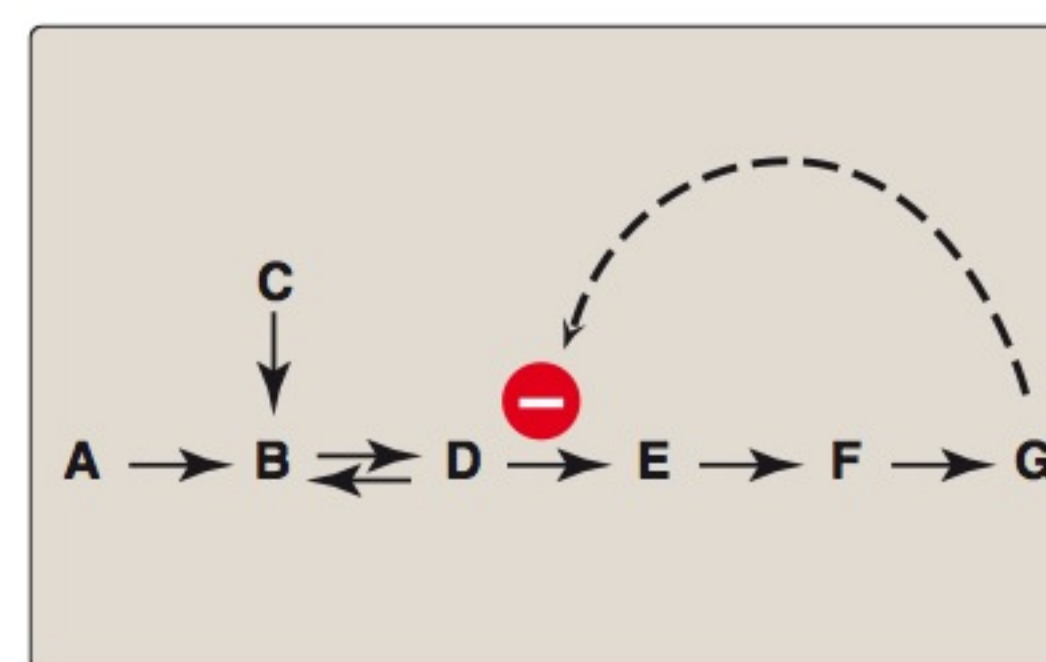


Figura 5.17

Inibição de uma via metabólica por retroalimentação.

B. Regulação de enzimas por modificação covalente

Muitas enzimas podem ser reguladas por modificação covalente, mais frequentemente pela adição ou pela remoção de grupos fosfato de resíduos específicos de serina, treonina ou tirosina na enzima. A fosforilação de proteínas é reconhecida como uma das principais formas pelas quais os processos celulares são regulados.

1. **Fosforilação e desfosforilação.** As reações de fosforilação são catalisadas por uma família de enzimas denominadas proteína-quinases, as quais utilizam trifosfato de adenosina (ATP) como doador de fosfato. Os grupos fosfato são clivados a partir de enzimas fosforiladas pela ação das fosfoproteínas-fosfatases (Figura 5.18).
2. **Resposta da enzima à fosforilação.** Dependendo da enzima específica, a forma fosforilada pode ser mais ou menos ativa do que a forma não fosforilada. Por exemplo, a fosforilação da *glicogênio-fosforilase* (enzima que degrada o glicogênio) aumenta sua atividade, enquanto a adição de fosfato à enzima *glicogênio-sintase* (enzima que sintetiza o glicogênio) diminui sua atividade (veja a p. 132).

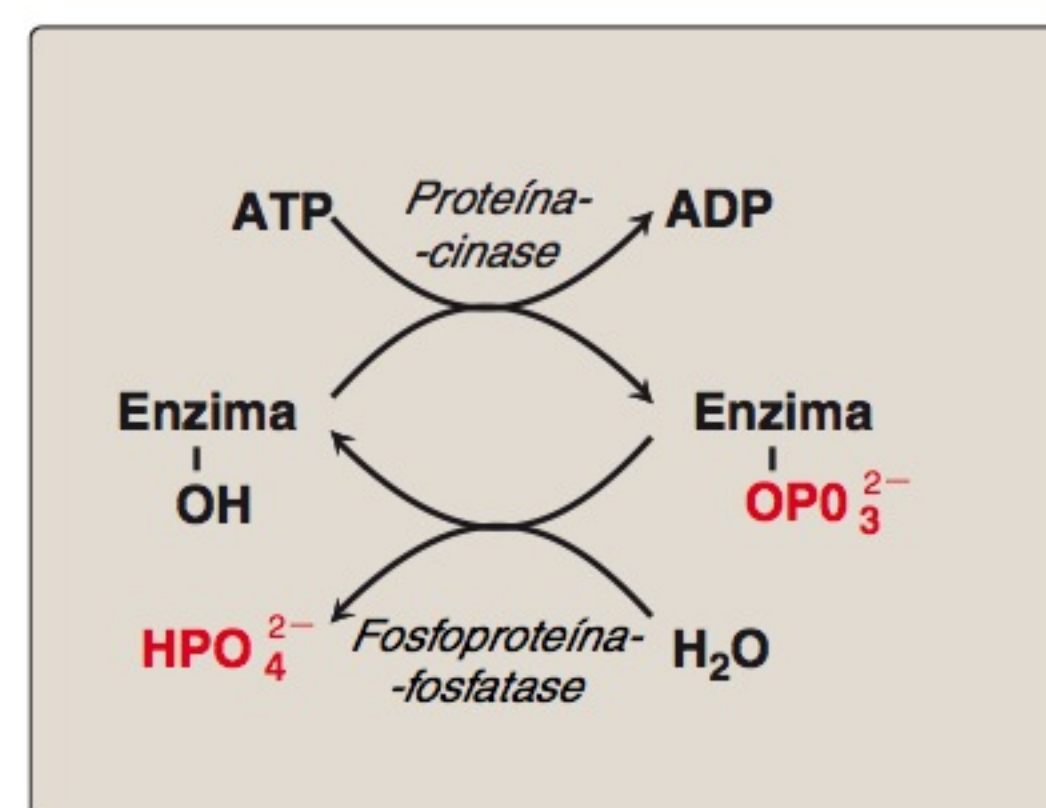


Figura 5.18

Modificação covalente por adição e remoção de grupos fosfato.

C. Indução e repressão da síntese de enzimas

Os mecanismos reguladores descritos acima modificam a atividade das moléculas enzimáticas preexistentes. Entretanto, as células também podem regular a quantidade de enzima presente pela alteração da velocidade de degradação das moléculas enzimáticas ou, mais frequentemente, por meio da alteração da velocidade da síntese de enzimas. O aumento

EVENTO REGULADOR	EFETOR TÍPICO	RESULTADOS	TEMPO NECESSÁRIO PARA A ALTERAÇÃO
Inibição pelo substrato	Substrato	Altera velocidade (v_o)	Imediato
Inibição pelo produto	Produto da reação	Altera $V_{m\acute{a}x}$ e/ou K_m	Imediato
Controle alostérico	Produto final da via	Altera $V_{m\acute{a}x}$ e/ou $K_{0,5}$	Imediato
Modificação covalente	Outra enzima	Altera $V_{m\acute{a}x}$ e/ou K_m	Imediato a minutos
Síntese ou degradação da enzima	Hormônio ou metabólito	Altera a quantidade da enzima	Horas a dias

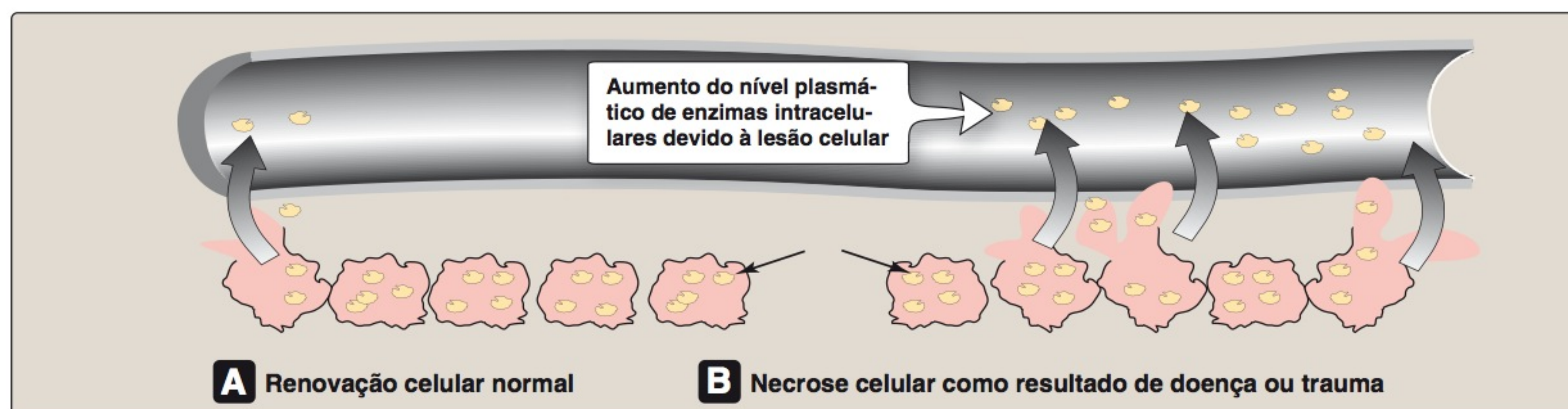
Figura 5.19

Mecanismos de regulação da atividade enzimática. (Nota: a inibição pelo produto final da via também é denominada inibição por retroalimentação.)

(indução) ou a diminuição (repressão) de síntese de enzimas leva a uma alteração na população total de sítios ativos. As enzimas sujeitas à regulação da síntese são, com frequência, aquelas necessárias em apenas um estágio do desenvolvimento ou em condições fisiológicas especiais. Por exemplo, níveis elevados de insulina, resultantes de altos níveis de glicose no sangue, levam a um aumento na síntese de enzimas-chave do metabolismo da glicose (veja a p. 105). Em contraste, enzimas continuamente utilizadas em geral não são reguladas pela alteração da velocidade de sua síntese. Alterações dos níveis enzimáticos, resultantes da indução ou da repressão da síntese proteica, são lentas (de horas a dias) se comparadas com alterações da atividade enzimática reguladas alostericamente ou covalentemente, que ocorrem em segundos a minutos. A Figura 5.19 resume os mecanismos mais comuns de regulação da atividade enzimática.

IX. ENZIMAS NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO

As enzimas plasmáticas podem ser classificadas em dois grupos principais. Primeiro, um grupo relativamente pequeno de enzimas é secretado de modo ativo no sangue por certos tipos celulares. Por exemplo, o fígado secreta os zimogênios (precursores inativos) de enzimas envolvidas na coagulação sanguínea. Segundo, um grande número de enzimas é liberado das células durante a renovação celular normal. Essas enzimas quase sempre atuam intracelularmente e não têm função fisiológica no plasma. Em indivíduos saudáveis, o nível dessas enzimas é razoavelmente constante; representa um estado estacionário em que a velocidade de liberação delas no plasma pelas células danificadas é equilibrada por uma velocidade igual na remoção do plasma. O aumento na atividade dessas enzimas no plasma pode indicar lesão tecidual (Figura 5.20).

**Figura 5.20**

Liberação de enzimas a partir de células normais e de células doentes ou expostas a um trauma.

O plasma é a parte fluida e não celular do sangue. Com mais frequência, os exames de laboratório para atividades enzimáticas utilizam o soro, que é obtido pela centrifugação do sangue total após sua coagulação. O plasma é um líquido fisiológico, ao passo que o soro é preparado no laboratório.

A. Alterações dos níveis plasmáticos de enzimas em estados patológicos

Muitas doenças que causam lesão tecidual resultam no aumento da liberação das enzimas intracelulares no plasma. As atividades de muitas dessas enzimas são rotineiramente determinadas para fins de diagnóstico em doenças do coração, do fígado, do músculo esquelético e de outros tecidos. O nível de atividade enzimática específica no plasma frequentemente está relacionado com a extensão da lesão tecidual. Assim, a determinação do grau de aumento da atividade de uma determinada enzima no plasma em geral é útil para a avaliação do prognóstico para o paciente.

B. Enzimas plasmáticas como ferramentas diagnósticas

Algumas enzimas apresentam atividade relativamente alta em apenas um ou em poucos tecidos. A presença de aumento da atividade dessas enzimas no plasma reflete uma lesão do tecido correspondente. Por exemplo, a enzima *alanina-aminotransferase* (ALT, veja a p. 251) é abundante no fígado. O aparecimento de níveis elevados de ALT no plasma sinaliza uma possível lesão do tecido hepático. (Nota: medidas de atividade da ALT fazem parte da bateria de testes de função hepática.) O aumento no nível plasmático de enzimas com ampla distribuição tecidual fornece uma indicação menos específica sobre o sítio da lesão celular. Essa falta de especificidade tecidual limita o valor diagnóstico de muitas enzimas plasmáticas.

C. Isoenzimas e doenças cardíacas

As isoenzimas (também chamadas isozimas) são enzimas que catalisam a mesma reação. Entretanto, elas não têm necessariamente as mesmas propriedades físicas, devido a diferenças geneticamente determinadas na sequência de seus aminoácidos. Por essa razão, as isoenzimas podem conter diferentes números de aminoácidos com carga e, portanto, podem ser separadas umas das outras por eletroforese (Figura 5.21). Diferentes órgãos frequentemente contêm proporções características de diferentes isoenzimas. O padrão de isoenzimas encontrado no plasma pode, desse modo, servir para identificar o sítio da lesão tecidual. Por exemplo, os níveis plasmáticos de *creatina-quinase* (CK) são comumente determinados no diagnóstico do infarto do miocárdio. Eles são particularmente úteis quando o eletrocardiograma é de difícil interpretação, como em casos com episódios prévios de doença cardíaca.

- Estrutura quaternária das isoenzimas.** Muitas isoenzimas contêm diferentes subunidades, em várias combinações. Por exemplo, a *creatina-quinase* (CK) ocorre na forma de três isoenzimas. Cada isoenzima é um dímero, composto por dois polipeptídeos (chamados de subunidades B e M) associados em uma de três combinações: CK1 = BB, CK2 = MB e CK3 = MM. Cada isoenzima CK apresenta uma mobilidade eletroforética característica (Figura 5.21). (Nota: praticamente todas as CK no encéfalo apresentam a isoforma BB, enquanto o músculo esquelético possui a MM. No músculo cardíaco, cerca de um terço é MB e o restante é MM.)

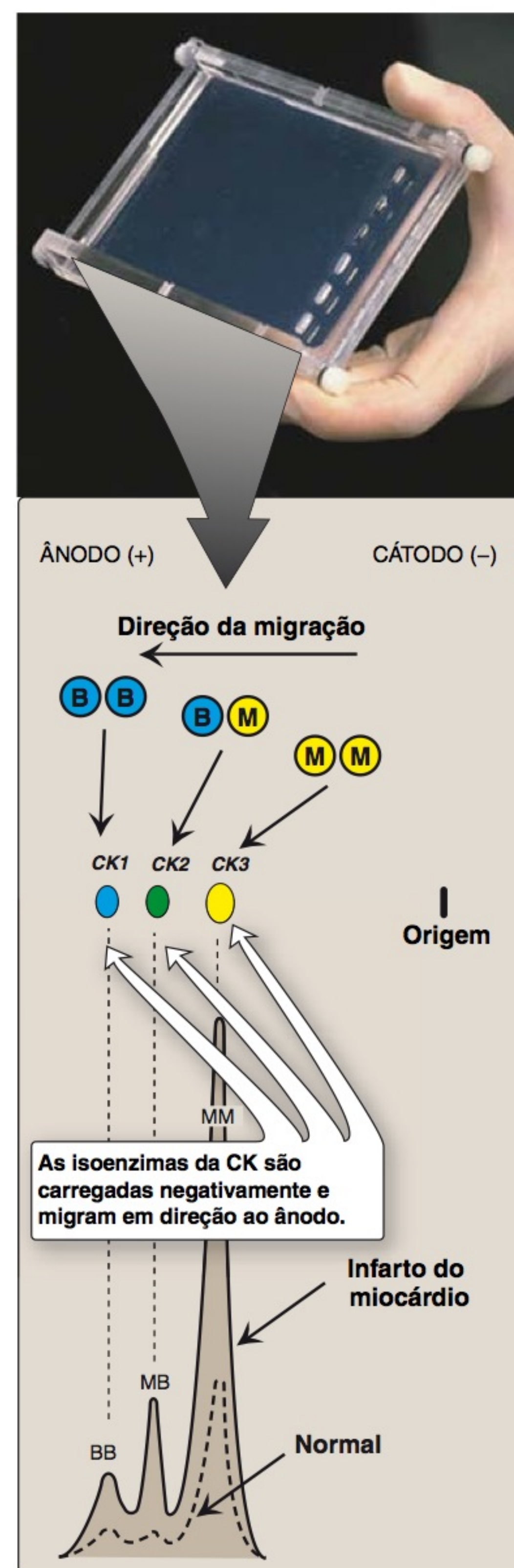


Figura 5.21

Estrutura das subunidades, mobilidade eletroforética e atividade enzimática das isoenzimas da *creatina-quinase* (CK).

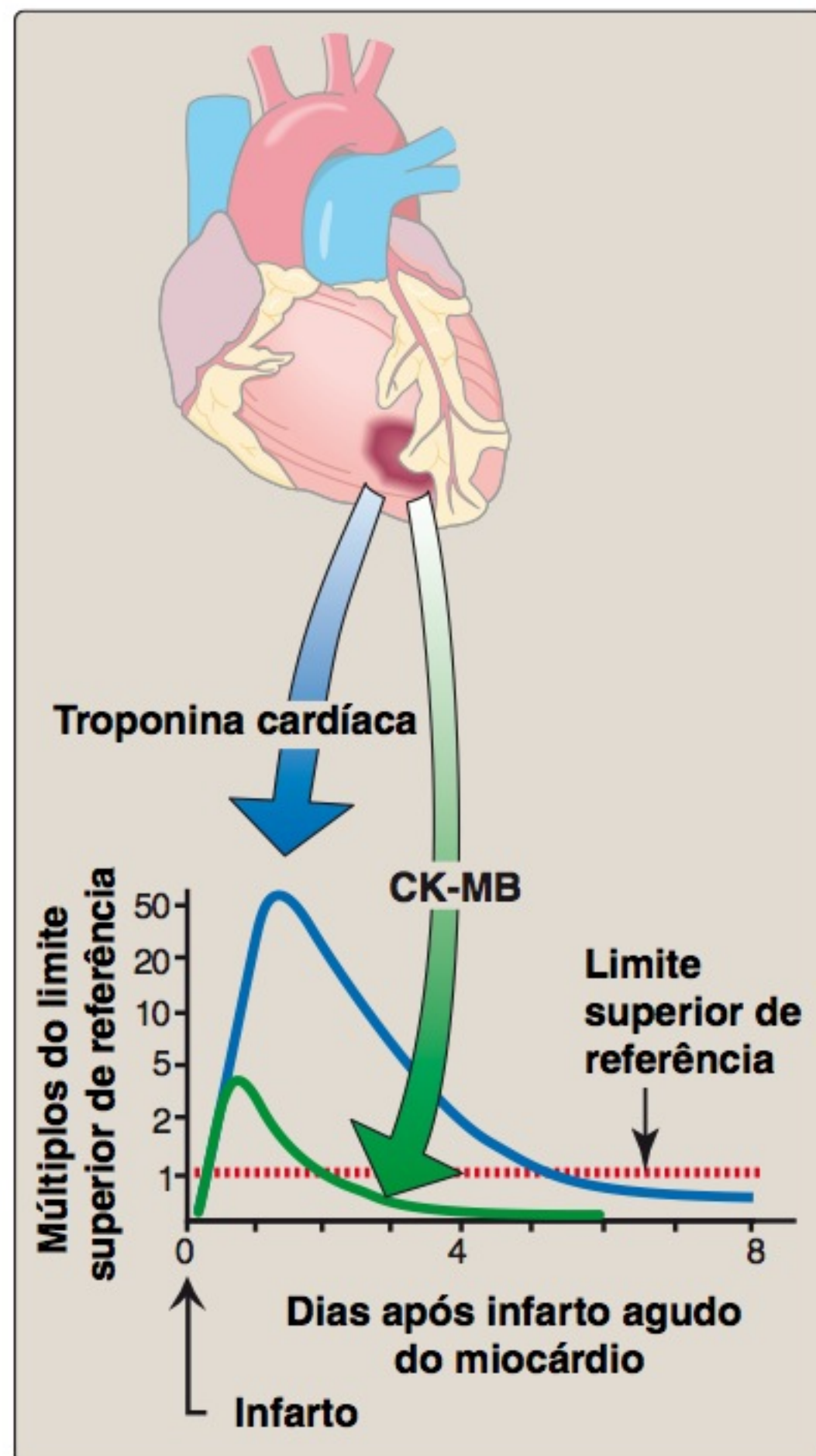


Figura 5.22

Aparecimento da *creatina-cinase* (CK) e da troponina cardíaca no plasma após um infarto do miocárdio.

2. **Diagnóstico de infarto do miocárdio.** Medidas de níveis sanguíneos de proteínas cardíacas específicas são utilizadas para o diagnóstico de infarto do miocárdio, pois o músculo miocárdico é o único tecido que contém mais de 5% da atividade total da CK na forma da isoenzima CK2 (MB). O aparecimento dessa isoenzima híbrida no plasma é praticamente específico para o infarto do miocárdio. Depois de um infarto agudo do miocárdio, essa isoenzima aparece cerca de 4 a 8 horas após o início da dor torácica, atinge o pico de atividade em aproximadamente 24 horas e retorna aos níveis basais após 48 a 72 horas (Figura 5.22). A troponina T e a troponina I são proteínas reguladoras, envolvidas na contratilidade do miocárdio. Elas são liberadas para o plasma em resposta ao dano cardíaco. A troponina I cardíaca (TnI-c) é altamente sensível e específica para avaliar dano ao tecido cardíaco. A TnI-c aparece no plasma dentro de 4 a 6 horas após o infarto do miocárdio, com pico de atividade plasmática entre 8 e 28 horas, permanecendo elevada durante 3 a 10 dias. Níveis elevados de troponinas séricas são mais preditivos para consequências adversas de uma angina instável ou de um infarto do miocárdio do que o exame convencional da CK2.

X. RESUMO DO CAPÍTULO

Enzimas são **proteínas catalisadoras** que aumentam a velocidade de uma reação química por diminuir a energia do estado de transição (Figura 5.23). As enzimas não são consumidas durante a reação que catalisam. As moléculas das enzimas contêm uma região especial, um bolso ou uma fenda chamada de **sítio ativo**. Este contém cadeias laterais de aminoácidos que participam da ligação com o substrato e da catálise. O sítio ativo liga o substrato, formando um **complexo enzima-substrato (ES)**. Acredita-se que essa ligação cause uma mudança conformacional na enzima (encaixe induzido), que permite a catálise. O ES é convertido no complexo enzima-produto (EP), posteriormente dissociado em enzima e produto. Uma enzima permite que a reação proceda rapidamente nas condições existentes dentro da célula, por facilitar uma **via alternativa de reação com menor energia livre de ativação**. A enzima não altera a energia livre dos reagentes e dos produtos e, assim, não altera o equilíbrio da reação. A maioria das enzimas apresenta a **cinética de Michaelis-Menten**. Um gráfico relacionando a **velocidade inicial da reação (v_o)** com a **concentração de substrato [S]** tem um formato **hiperbólico**, semelhante à curva de dissociação do oxigênio da mioglobina. Qualquer substância capaz de diminuir a velocidade de uma reação catalisada por enzima é chamada de inibidor. Os dois tipos mais comuns de inibição reversível são a competitiva (que **aumenta o K_m aparente**) e a **não competitiva** (na qual a **$V_{máx}$ aparente é diminuída**). Em contraste, **as enzimas alostéricas, com múltiplas subunidades**, frequentemente mostram uma **curva sigmoidal**, com aspecto semelhante à curva de dissociação do oxigênio da hemoglobina. Essas enzimas são frequentemente encontradas catalisando **passos comprometidos (frequentemente os passos mais lentos ou limitantes da velocidade)** de uma via. As enzimas alostéricas são reguladas por moléculas chamadas de **efetores** (ou **moduladores**), que se ligam de forma não covalente a outro sítio, que não o sítio ativo. Os efetores podem ser **positivos** (aceleram as reações catalisadas pelas enzimas) ou **negativos** (diminuem a velocidade da reação). Um efector alostérico pode alterar a afinidade da enzima por seu substrato, ou modificar a atividade catalítica máxima da enzima, ou ambos. As enzimas podem, também, ser reguladas por modificação covalente e por mudanças na velocidade de sua síntese ou degradação. Na medicina, as enzimas possuem também valor diagnóstico e terapêutico.

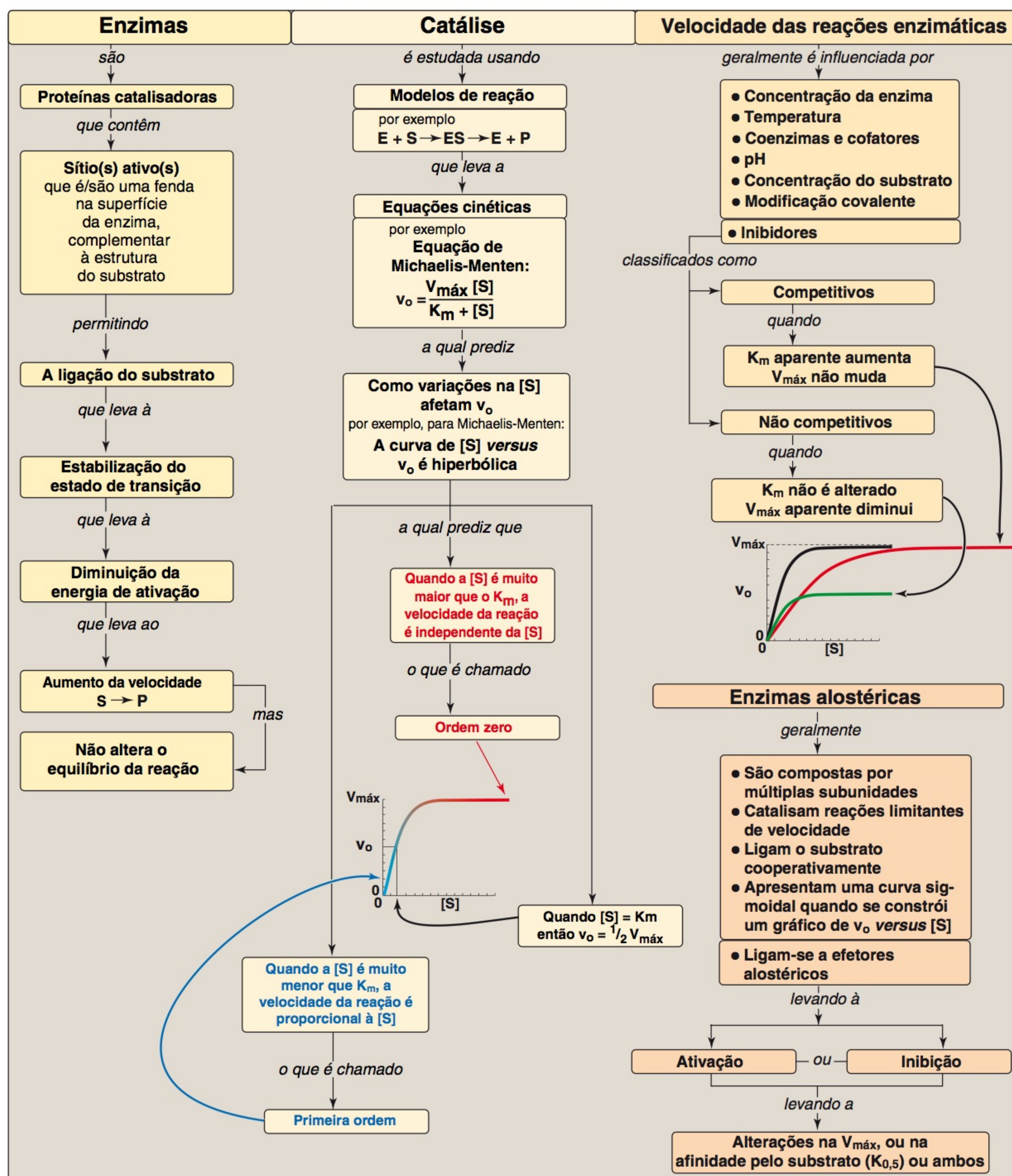


Figura 5.23

Mapa de conceitos-chave para enzimas. S = substrato, $[S]$ = concentração de substrato, P = produto, E = enzima, v_o = velocidade inicial, $V_{máx}$ = velocidade máxima, K_m = constante de Michaelis, $K_{0,5}$ = concentração de substrato que dá metade da velocidade máxima.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 5.1 No caso de envenenamento por etilenoglicol e sua acidose metabólica característica, o tratamento envolve a correção da acidose, a remoção de todo etilenoglicol remanescente e a administração de um inibidor da álcool-desidrogenase (ADH, álcool:NAD⁺ oxidoreductase), enzima que oxida o etilenoglicol aos ácidos orgânicos que causam acidose. O etanol (álcool de cereais) frequentemente é o inibidor utilizado no tratamento do envenenamento por etilenoglicol. Ele age inibindo competitivamente a ADH. Como inibidor competitivo, o etanol:

- A. Aumenta o K_m aparente sem afetar a $V_{máx}$.
- B. Diminui o K_m aparente sem afetar a $V_{máx}$.
- C. Aumenta a $V_{máx}$ aparente sem afetar o K_m .
- D. Diminui a $V_{máx}$ aparente sem afetar o K_m .
- E. Diminui o K_m e a $V_{máx}$ aparentes.

- 5.2 A ADH requer NAD⁺ para sua atividade catalítica. Na reação catalisada pela ADH, um álcool é oxidado a um aldeído, e o NAD⁺ é reduzido a NADH e dissociado da enzima. O NAD⁺ funciona como um(a):

- A. Apoenzima.
- B. Coenzima, cossubstrato.
- C. Coenzima, grupo prostético.
- D. Cofator.
- E. Efetor heterotrópico.

- 5.3 Um homem de 70 anos foi admitido no setor de emergência com histórico de 12 horas de dor no peito. A medida da atividade da creatina-cinase (CK) no soro foi determinada na admissão (no 1º dia) e a seguir, diariamente (Figura 5.24). No segundo dia após a admissão, ele apresentou arritmia cardíaca, a qual cessou após três ciclos de cardioconversão elétrica, os dois últimos com máximo de energia. (Nota: a cardioconversão é feita colocando-se duas placas com 12 cm de diâmetro em contato firme com o tórax e aplicando-se uma breve diferença de voltagem.) O ritmo cardíaco normal foi reestabelecido. Ele não apresentou arritmia recorrente nos dias consecutivos. Sua dor no peito diminuiu, e ele foi liberado no décimo dia. Qual das afirmações a seguir é mais consistente com os dados apresentados?

- A. O paciente teve um infarto do miocárdio 48 a 64 horas antes de sua admissão.
- B. O paciente teve um infarto do miocárdio no segundo dia.
- C. O paciente teve angina antes da admissão.
- D. O paciente teve uma lesão no músculo esquelético no segundo dia.
- E. Os dados não permitem qualquer conclusão sobre um infarto do miocárdio antes ou depois de sua admissão no hospital.

Resposta correta = A. Na presença de um inibidor competitivo, uma enzima parece ter menor afinidade pelo substrato, mas quando a concentração de substrato é aumentada, a velocidade observada se aproxima da $V_{máx}$. (Veja o painel B das Figuras 5.12 e 5.14 para uma comparação dos efeitos de inibidores competitivos e não competitivos.)

Resposta correta = B. Coenzimas cossubstratos são pequenas moléculas orgânicas que se associam transitoriamente com a enzima e a modificam. Coenzimas ou grupos prostéticos são pequenas moléculas orgânicas que se associam permanentemente à molécula da enzima e retornam ao seu estado original na própria molécula enzimática. Cofatores são íons metálicos. Efeitores heterotrópicos não são substratos.

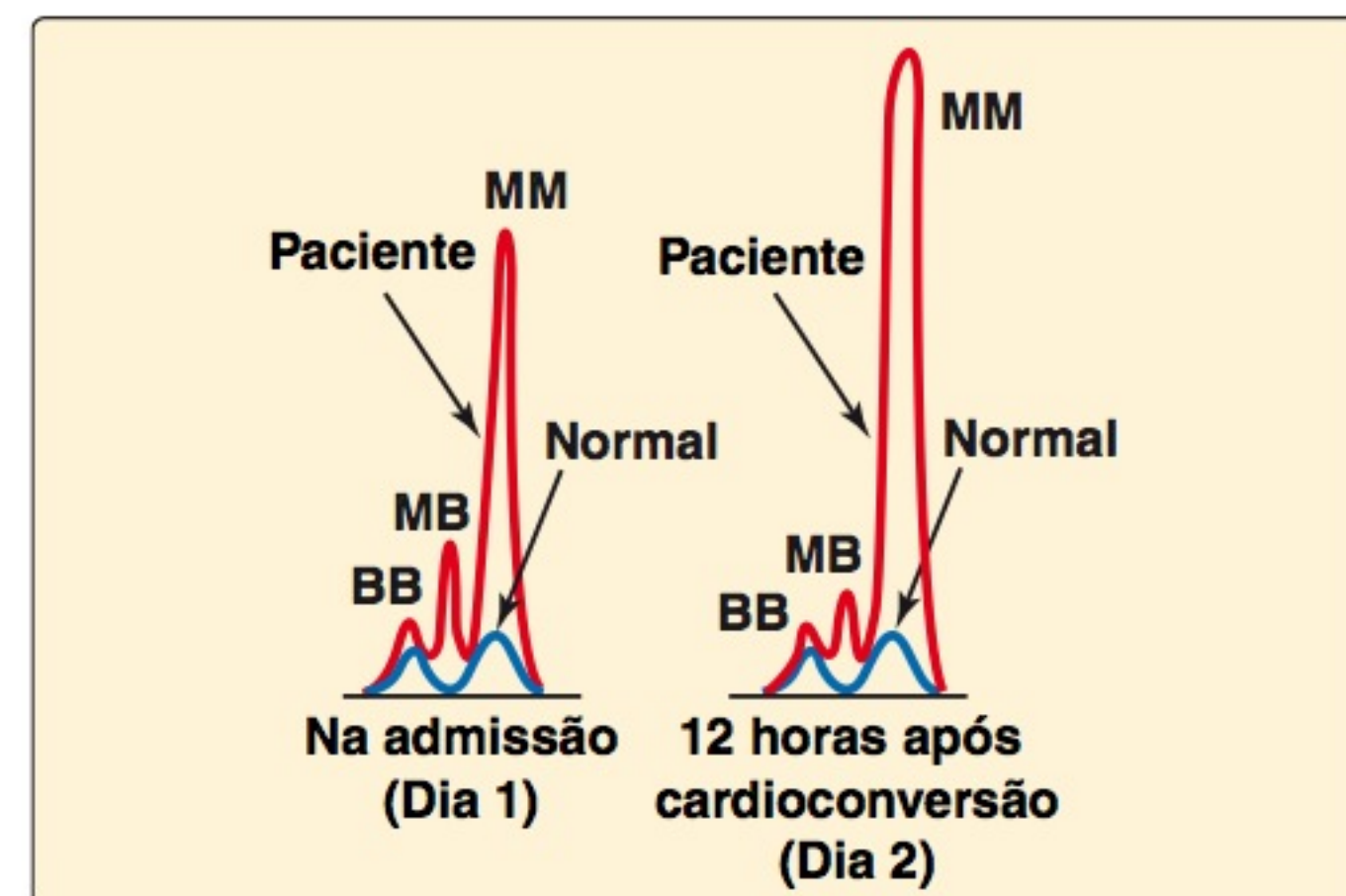


Figura 5.24
Níveis séricos de *creatina-cinase*.

Resposta correta = D. O padrão das isoenzimas da CK na admissão mostrou a isoenzima MB elevada, indicando que o paciente apresentou um infarto do miocárdio nas 12 a 24 horas anteriores. (Nota: em 48 a 64 horas depois do infarto, a isoenzima MB teria retornado aos valores normais.) No segundo dia, 12 horas após as cardioconversões, a isoenzima MB havia diminuído, indicando não haver lesão posterior no coração. Entretanto, o paciente apresentou aumento da isoenzima MM após a cardioconversão. Isso sugere lesão muscular, provavelmente resultante da contração convulsiva do músculo causada pela cardioconversão repetitiva. A angina é tipicamente o resultado de espasmos transitórios na vasculatura cardíaca, e não seria de se esperar que causasse morte tecidual capaz de aumentar a creatina-cinase sérica.

Bioenergética e Fosforilação Oxidativa

I. VISÃO GERAL

A bioenergética descreve a transferência e a utilização da energia nos sistemas biológicos. Ela utiliza algumas ideias básicas da termodinâmica, em especial o conceito de energia livre. Mudanças na energia livre (ΔG) fornecem uma medida da possibilidade, em termos energéticos, de que uma reação química ocorra e permitem, portanto, prever se uma reação ou processo pode acontecer. A bioenergética preocupa-se apenas com os estados energéticos inicial e final dos componentes da reação, e não com o mecanismo da alteração química nem com o tempo necessário para que ela ocorra. Em suma, a bioenergética prediz se um processo é possível, enquanto a cinética avalia quão rapidamente a reação acontece (veja a p. 54).

II. ENERGIA LIVRE

O sentido e a extensão de uma reação química são determinados pelo grau em que dois fatores são alterados durante a reação. Esses são a entalpia (ΔH , uma medida da mudança no conteúdo de calor dos reagentes e produtos) e a entropia (ΔS , uma medida da desorganização dos reagentes e produtos, Figura 6.1). Nenhuma dessas grandezas termodinâmicas é, por si só, suficiente para determinar se uma reação química ocorrerá espontaneamente no sentido em que é escrita. Entretanto, quando combinadas matematicamente (Figura 6.1), a entalpia e a entropia podem ser utilizadas para definir uma terceira grandeza, a energia livre (G), que prediz o sentido em que uma reação ocorrerá espontaneamente.

III. VARIAÇÕES NA ENERGIA LIVRE

A variação na energia livre pode ser mostrada de duas formas, ΔG e ΔG° . A primeira, ΔG (sem o sobrescrito "o"), é mais geral, pois prediz a variação na

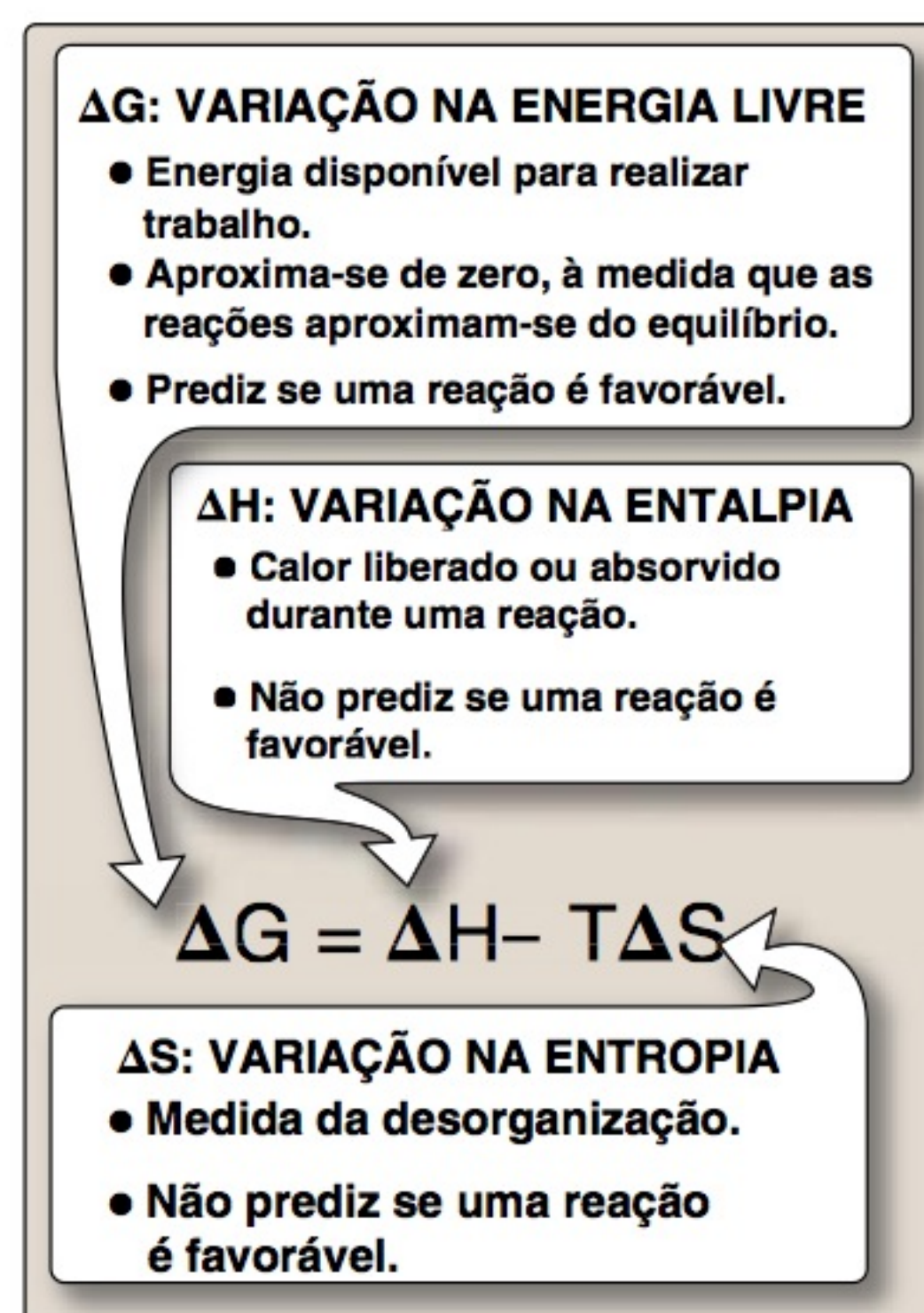
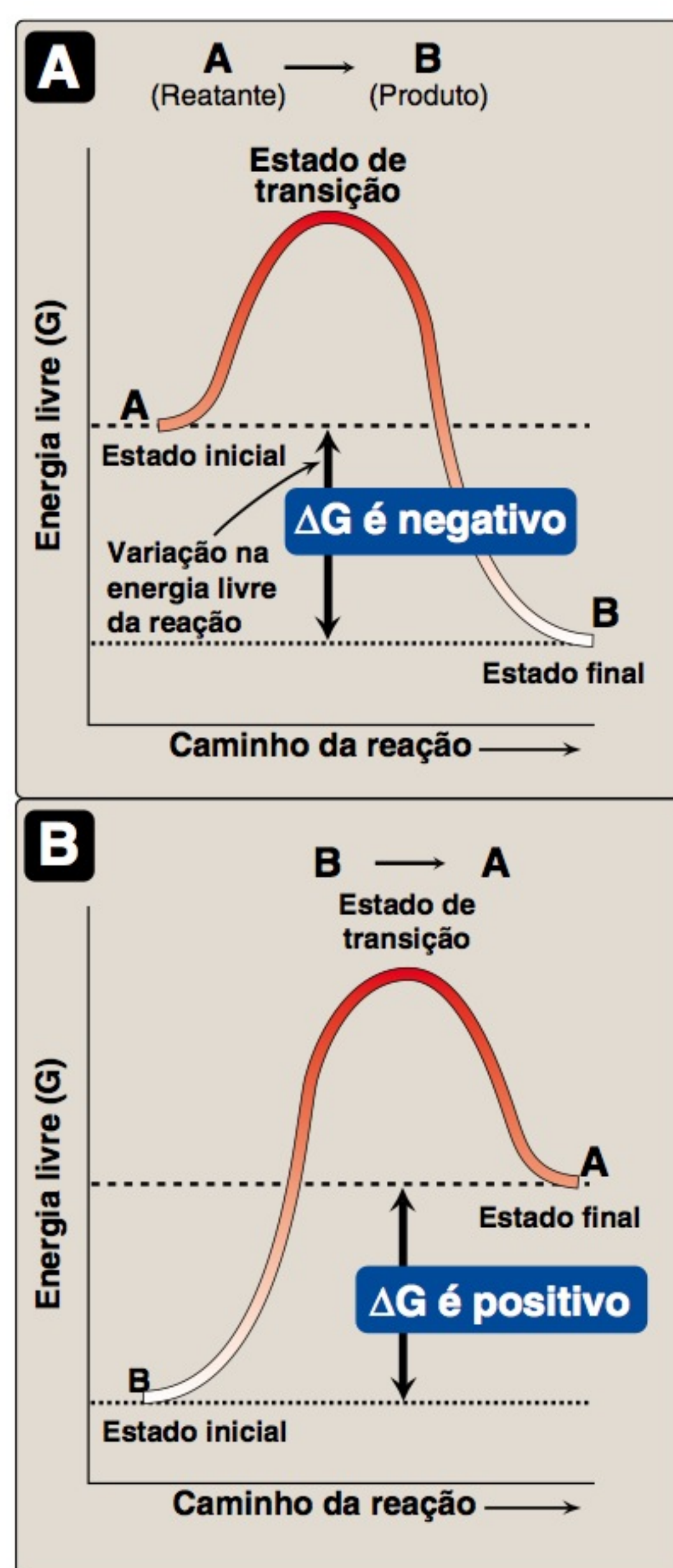


Figura 6.1

Relação entre as variações na energia livre (G), entalpia (H) e entropia (S). T é a temperatura absoluta em graus Kelvin ($^\circ K$): $^\circ K = ^\circ C + 273$.

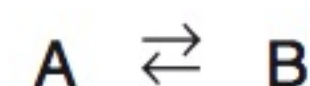
**Figura 6.2**

Variação na energia livre (ΔG) durante uma reação. A. O produto apresenta menor energia livre (G) que o reatante. B. O produto apresenta maior energia livre que o reatante.

energia livre e, assim, o sentido de uma reação em qualquer concentração especificada dos produtos e dos reagentes. Assim sendo, ΔG é uma variável. Por outro lado, a variação na energia livre padrão, ΔG° (com o sobrescrito “o”), é a variação na energia livre quando reagentes e produtos estão em concentração igual a 1 mol/L. (Nota: a concentração de prótons é considerada, neste texto, 10^{-7} mol/L, ou seja, pH = 7.) Embora ΔG° represente variações de energia nessas concentrações não fisiológicas de reagentes e produtos, ainda assim é útil para a comparação de variações de energia em diferentes reações. Além disso, ΔG° pode ser determinado facilmente a partir de medidas da constante de equilíbrio (veja a p. 72). Esta seção resume os usos de ΔG ; ΔG° será descrito na p. 71.

A. O sinal de ΔG prediz o sentido da reação

A variação na energia livre, ΔG , pode ser utilizada para prever o sentido de uma reação em condições de pressão e temperatura constantes. Considere a reação:



1. **G negativo.** Se ΔG é um valor negativo, há uma perda líquida de energia, e a reação anda espontaneamente no sentido em que está escrita, ou seja, A é convertido em B (Figura 6.2A). A reação é dita exergônica.
2. **ΔG positivo.** Se ΔG é um valor positivo, há ganho líquido de energia, e a reação não anda espontaneamente (como indicado na Figura 6.2B). Alguma energia deve ser adicionada ao sistema para que a reação ande de B para A e a reação seja dita endergônica.
3. **ΔG igual a zero.** Se $\Delta G = 0$, os reagentes estão em equilíbrio. (Nota: quando uma reação ocorre espontaneamente – ou seja, alguma energia livre está sendo perdida – então a reação continua até que ΔG atinja o zero e o equilíbrio seja estabelecido.)

B. ΔG de reações no sentido direto e inverso

A energia livre de uma reação ($A \rightarrow B$) no sentido direto (aquele em que está escrita) é de igual magnitude, mas de sinal oposto àquela da reação no sentido inverso ($B \rightarrow A$). Por exemplo, se o ΔG da reação no sentido direto é -5 kcal/mol, então o ΔG da reação no sentido inverso é $+5$ kcal/mol. (Nota: o ΔG também pode ser expresso em quilojoules por mol ou kJ/mol [$1 \text{ kcal} = 1,4 \text{ kJ}$].)

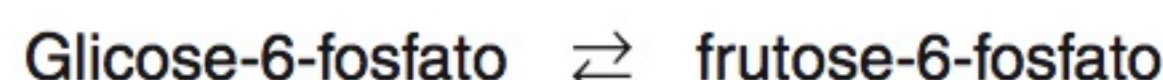
C. O ΔG depende das concentrações dos reagentes e dos produtos

O ΔG da reação $A \rightarrow B$ depende da concentração do reatante e do produto. Sob temperatura e pressão constantes, a seguinte relação pode ser deduzida:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

onde ΔG° é a variação de energia livre padrão (veja a seguir);
 R é a constante dos gases (1,987 cal/mol-grau);
 T é a temperatura absoluta ($^\circ\text{K}$);
 $[A]$ e $[B]$ são as concentrações reais de reagentes e produtos;
 $\ln$ representa logaritmo natural.

Uma reação com ΔG° positivo pode ocorrer no sentido direto (ter ΔG final negativo) se a razão entre produtos e reagentes ($[B]/[A]$) for suficientemente pequena (ou seja, se a razão de reagentes para produtos for muito grande). Por exemplo, considere a reação:



A Figura 6.3A mostra as condições de reação em que a concentração do reagente, a glicose-6-fosfato, é alta, quando comparada com a concentração do produto, a frutose-6-fosfato. Isso significa que a razão entre produto e reagente é pequena e, portanto, $RT \ln ([\text{frutose-6-fosfato}]/[\text{glicose-6-fosfato}])$ é um valor alto e negativo, resultando em ΔG negativo, apesar de ΔG° ser positivo. Desse modo, a reação pode andar no sentido direto.

D. Variação padrão de energia livre, ΔG°

ΔG° é denominado variação padrão de energia livre, pois é igual à variação de energia livre, ΔG , em condições padrão, ou seja, quando reagentes e produtos são mantidos em concentrações de 1 mol/L (Figura 6.3B). Nessas condições, o logaritmo natural ($\ln$) da razão entre produtos e reagentes é zero ($\ln 1 = 0$). Desse modo, a equação apresentada anteriormente torna-se:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + 0$$

1. **ΔG° possui valor preditivo apenas em condições padrão.** Sob condições padrão, ΔG° pode ser utilizado para prever o sentido em que uma reação anda, pois, nessas condições, ΔG° é igual a ΔG . O ΔG° não pode, porém, prever o sentido de uma reação em condições fisiológicas, pois é um valor composto apenas por constantes (R , T e K_{eq}) e, portanto, não é alterado por mudanças nas concentrações de substratos e produtos.
2. **Relação entre ΔG° e K_{eq} .** Em uma reação $A \rightarrow B$, um ponto de equilíbrio é alcançado, em que as alterações químicas não ocorrem mais de forma efetiva, ou seja, quando A é convertido em B na mesma velocidade com que B é convertido em A . Nesse estado, a razão entre $[B]$ e $[A]$ é constante, independentemente das concentrações reais dos dois compostos:

$$K_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}}$$

onde K_{eq} é a constante de equilíbrio e $[A]_{eq}$ e $[B]_{eq}$ são as concentrações de A e B no equilíbrio. Quando a reação $A \rightleftharpoons B$ chega ao equilíbrio, em condições de temperatura e pressão constantes, a variação de energia livre final (ΔG) no equilíbrio é zero. Portanto,

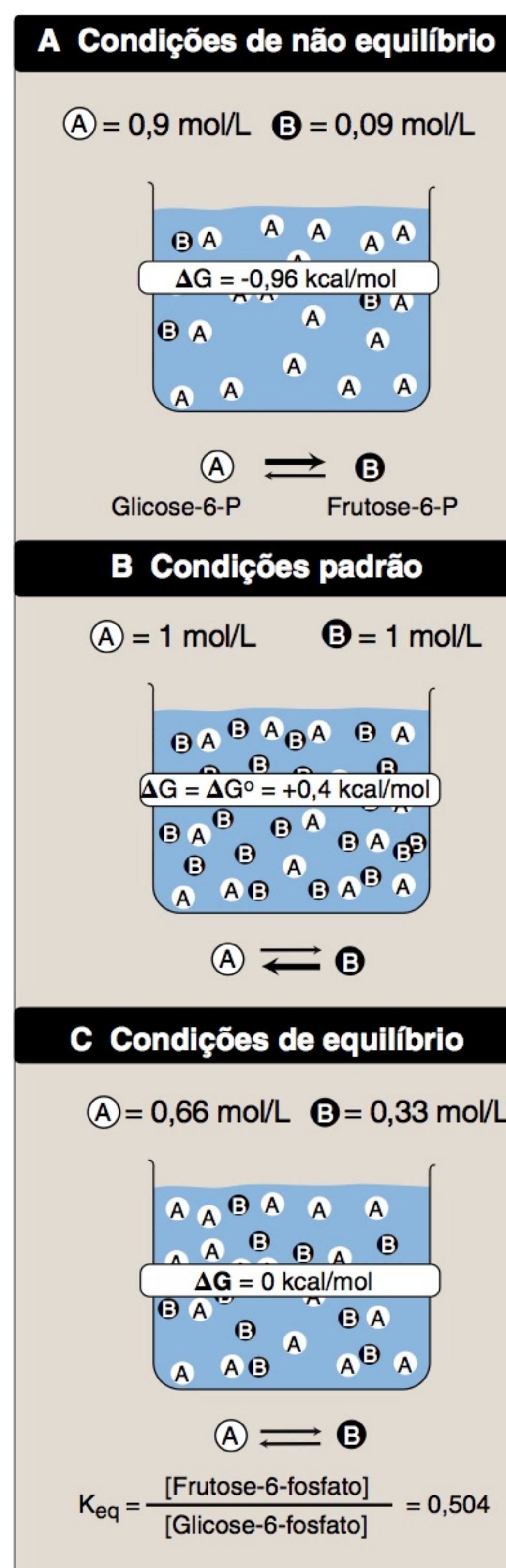


Figura 6.3

O ΔG de uma reação depende da concentração de reagente (A) e produto (B). Para a conversão de glicose-6-P em frutose-6-P, o ΔG é negativo quando a razão entre o reagente (A) e o produto (B) for alta (acima, painel A); é positivo em condições padrão (painel B, no meio da figura); e é zero no equilíbrio (figura inferior, painel C).

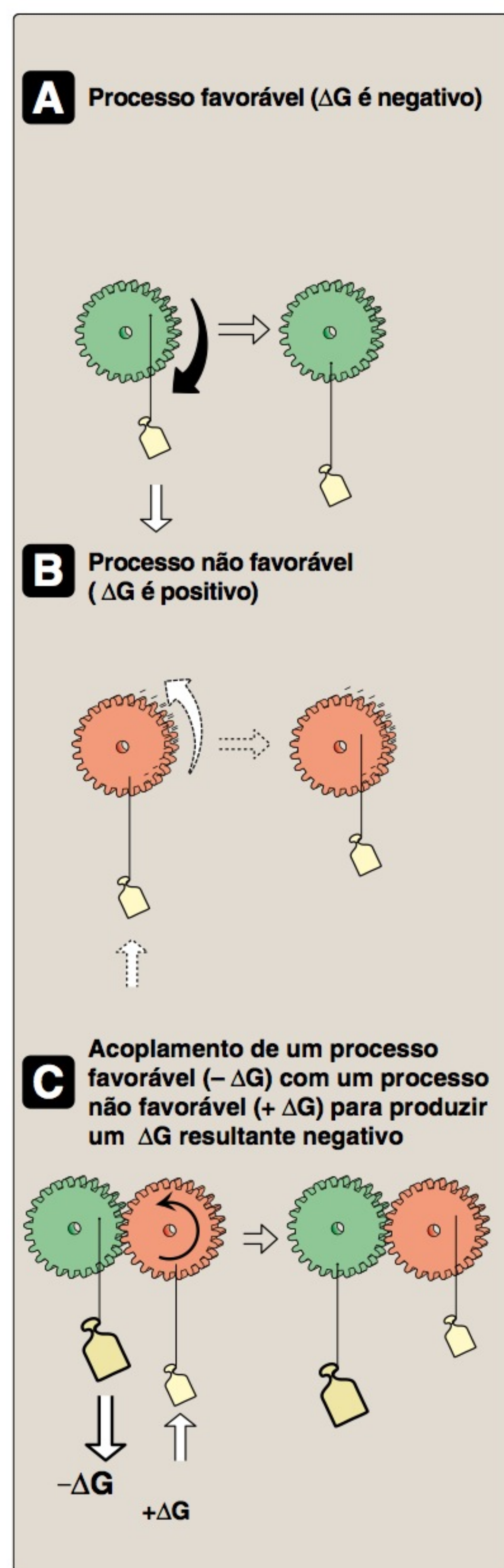


Figura 6.4

Modelo mecânico de acoplamento de processos favoráveis e não favoráveis.

$$\Delta G = 0 = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}}$$

onde as concentrações reais de A e B são iguais às concentrações de reagentes e produtos no equilíbrio, $[A]_{eq}$ e $[B]_{eq}$, e sua razão, como mostrado anteriormente, é igual a K_{eq} . Assim,

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

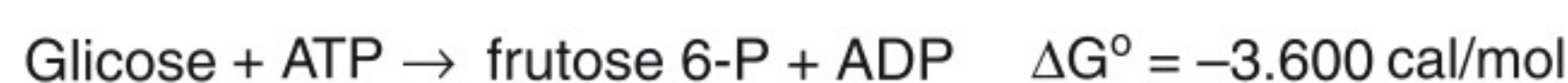
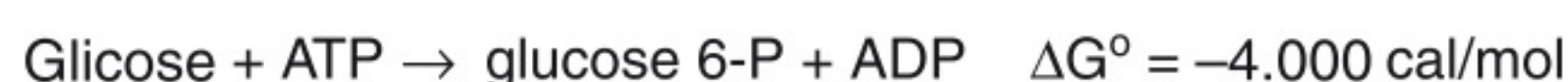
Essa equação nos permite algumas previsões simples:

Se $K_{eq} = 1$, então $\Delta G^\circ = 0$ $A \rightleftharpoons B$

Se $K_{eq} > 1$, então $\Delta G^\circ < 0$ $A \rightleftharpoons B$

Se $K_{eq} < 1$, então $\Delta G^\circ > 0$ $A \rightleftharpoons B$

3. O ΔG° de duas reações consecutivas é aditivo. As variações padrão de energia livre (ΔG°) são aditivas em qualquer sequência de reações consecutivas, assim como as variações de energia livre (ΔG). Por exemplo,



4. ΔG s de uma via são aditivos. Essa propriedade aditiva das variações de energia livre é muito importante em vias bioquímicas por meio das quais os substratos devem fluir em determinado sentido (p. ex., $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D \rightarrow \dots$). Desde que a soma de ΔG s das reações individuais seja negativa, a via, potencialmente, pode ocorrer como está escrita, mesmo que algumas reações individuais componentes dessa via tenham ΔG maior que zero. A velocidade real das reações depende, logicamente, da diminuição das energias de ativação pelas enzimas que catalisam essas reações (veja a p. 55).

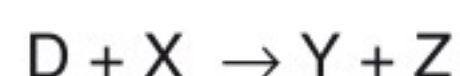
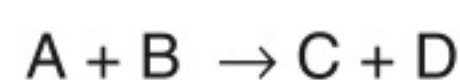
IV. O ATP COMO CARREADOR DE ENERGIA

Reações ou processos que apresentam ΔG muito maior que zero, como, por exemplo, íons movendo-se contra um gradiente de concentração através de uma membrana celular, podem ocorrer pelo acoplamento do movimento endergônico dos íons com um segundo processo espontâneo que apresente ΔG bastante negativo, como a hidrólise exergônica de trifosfato de adenosina (ATP). (Nota: na ausência de enzimas, o ATP é uma molécula estável, pois sua hidrólise apresenta uma alta energia de ativação.) A Figura 6.4 mostra um modelo mecânico de acoplamento de energia. Uma engrenagem à qual está ligado um peso gira espontaneamente no sentido de alcançar o estado de menor energia; nesse caso o peso procura a posição mais baixa (Figura 6.4A). O movimento contrário (Figura 6.4B) é energeticamente desfavorecido e não ocorre espontaneamente. A Figura 6.4C mostra que o movimento energeticamente favorável de uma engrenagem pode ser utilizado para girar uma segunda engrenagem no sentido para o qual ela não giraria esponta-

neamente. O exemplo mais simples de acoplamento energético em reações biológicas ocorre quando as reações que requerem energia e as reações que produzem energia compartilham um intermediário comum.

A. Reações são acopladas por meio de intermediários comuns

Duas reações químicas possuem um intermediário comum quando ocorrem sequencialmente, de modo que o produto da primeira reação seja substrato da segunda reação. Por exemplo, dadas as reações



D é o intermediário comum e pode servir como carreador de energia química entre as duas reações. Muitas reações acopladas utilizam ATP para gerar um intermediário comum. Essas reações podem envolver a transferência de um grupo fosfato do ATP para outra molécula. Outras reações levam à síntese de ATP pela transferência de fosfato de um intermediário rico em energia para o difosfato de adenosina (ADP).

B. ATP como carreador de energia

O ATP consiste em uma molécula de adenosina (adenina + ribose) à qual estão ligados três grupos fosfato (Figura 6.5). Se um fosfato for removido, ocorre a produção de ADP; se dois fosfatos forem removidos, o produto resultante é o monofosfato de adenosina (AMP). A energia livre padrão para a hidrólise do ATP, ΔG° , é aproximadamente $-7,3$ kcal/mol para cada um dos dois grupos fosfato terminais. Devido a esse ΔG° grande e negativo, o ATP é denominado um composto fosfatado de alta energia.

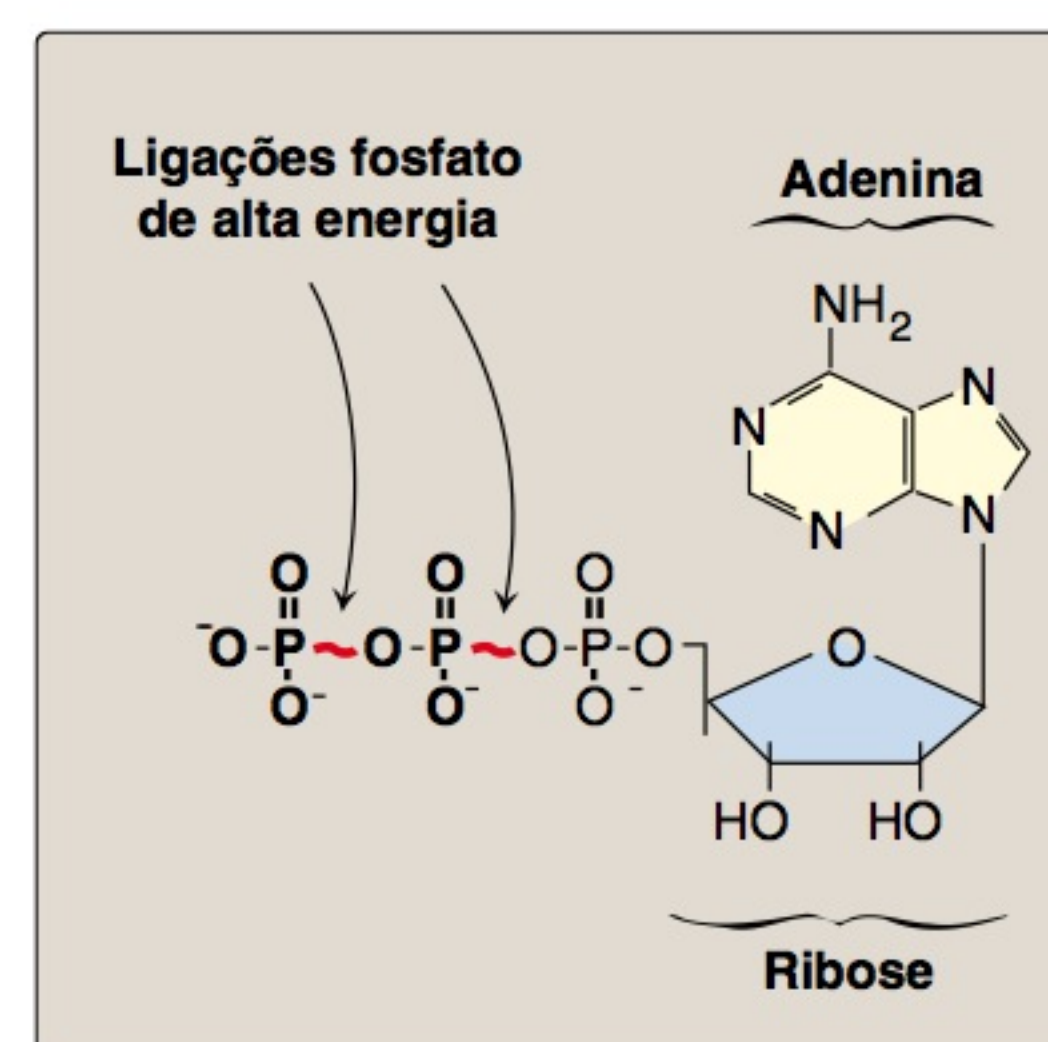


Figura 6.5

Trifosfato de adenosina.

V. A CADEIA TRANSPORTADORA DE ELÉTRONS

Moléculas ricas em energia, como a glicose, são metabolizadas por uma série de reações de oxidação, levando por fim à produção de CO_2 e água (Figura 6.6). Os intermediários metabólicos dessas reações doam elétrons a coenzimas específicas – nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD^+) e flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) – formando as coenzimas reduzidas ricas em energia, NADH e FADH_2 . Cada uma dessas coenzimas reduzidas, por sua vez, pode doar um par de elétrons a um grupo especializado de carreadores de elétrons, coletivamente denominados cadeia transportadora de elétrons, descrita nesta seção. À medida que os elétrons fluem através da cadeia transportadora de elétrons, eles perdem muito de sua energia livre. Parte dessa energia pode ser captada e armazenada para a produção de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico (P_i). Esse processo, denominado fosforilação oxidativa, é descrito na p. 77. A parte restante da energia livre, que não é captada para a síntese de ATP, é utilizada para impulsionar outras reações, como o transporte de Ca^{2+} para dentro da mitocôndria e a produção de calor.

A. A mitocôndria

A cadeia transportadora de elétrons localiza-se na membrana mitocondrial interna. É a via final comum pela qual os elétrons oriundos de diferentes combustíveis do organismo fluem para o oxigênio. O transporte de

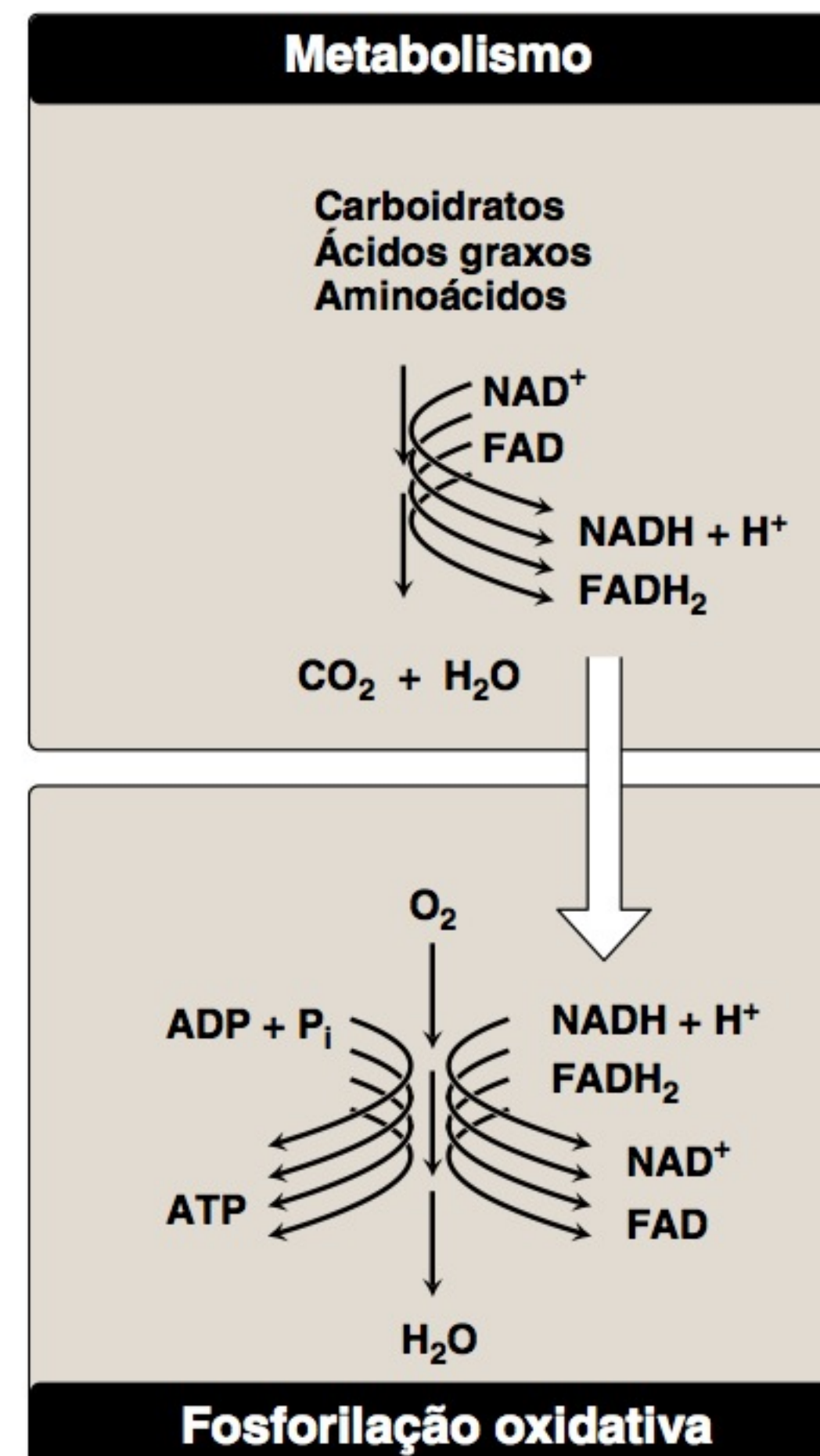
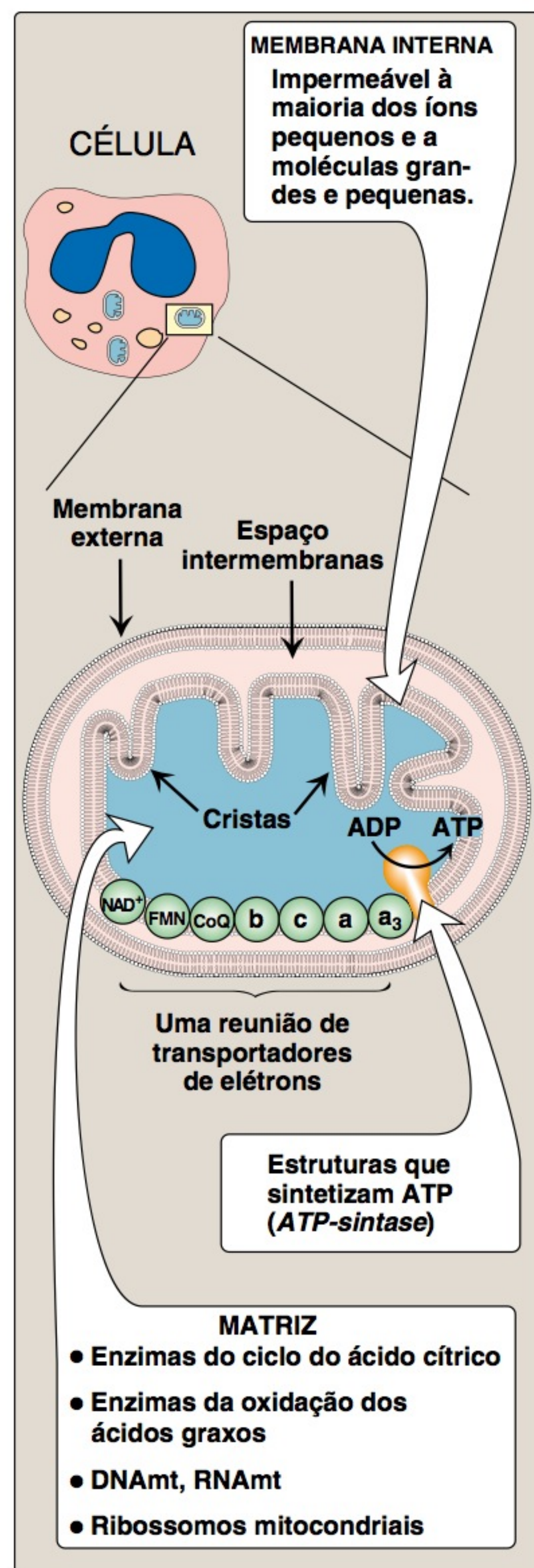


Figura 6.6

Degradação metabólica de moléculas cuja quebra produz energia.

**Figura 6.7**

Estrutura de uma mitocôndria, mostrando uma representação esquemática da cadeia transportadora de elétrons e das estruturas que sintetizam o ATP na membrana interna da mitocôndria.

DNAm = DNA mitocondrial;

RNAm = RNA mitocondrial.

(Nota: em contraste com a membrana interna, a membrana externa é altamente permeável e o meio no espaço intermembranas é semelhante ao citosol.)

elétrons e a síntese de ATP pela fosforilação oxidativa ocorrem continuamente em todos os tecidos que contêm mitocôndrias.

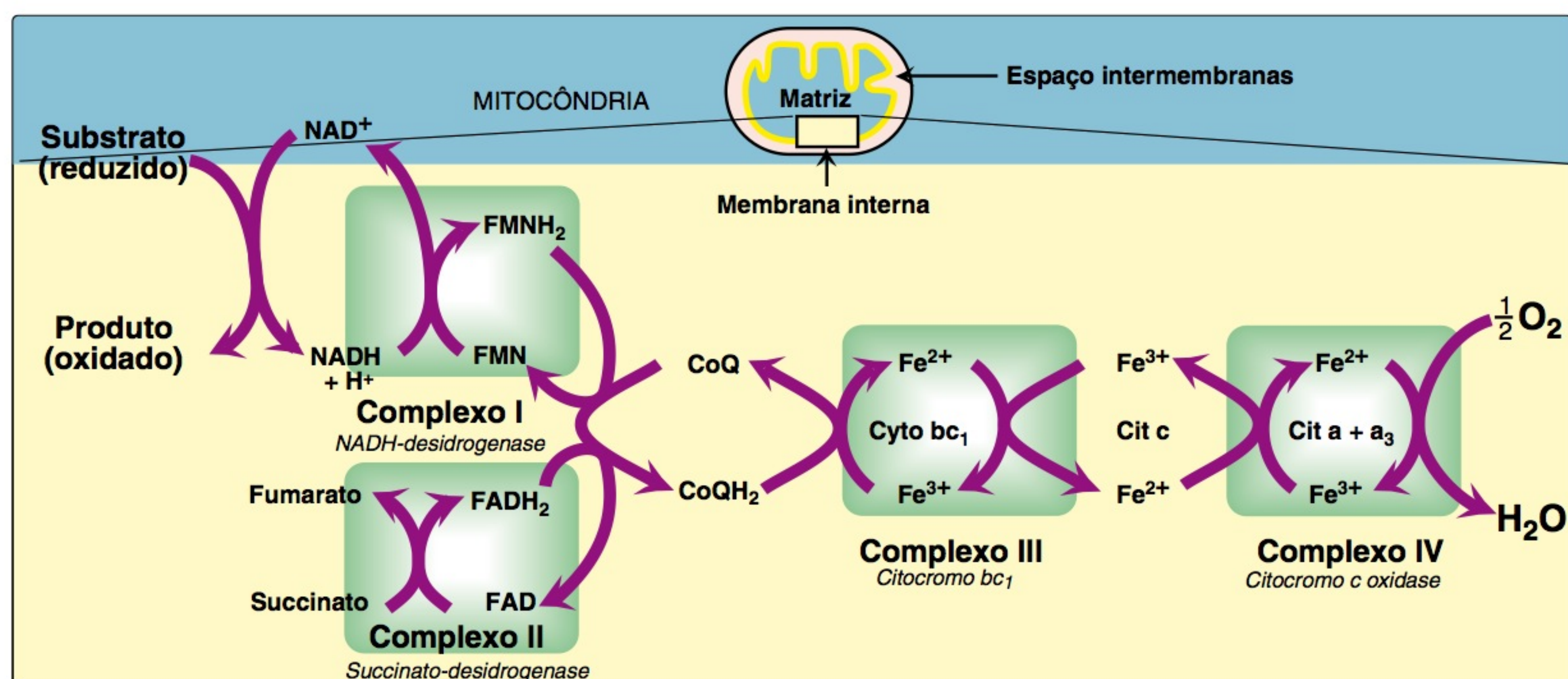
1. **Membranas da mitocôndria.** Os componentes da cadeia transportadora de elétrons estão localizados na membrana interna. Embora a membrana externa contenha poros especiais que a tornam livremente permeável para a maioria dos íons e das moléculas pequenas, a membrana mitocondrial interna, por sua vez, é uma estrutura especializada impermeável para a maioria dos íons pequenos, incluindo H^+ , Na^+ e K^+ , para moléculas pequenas, como ATP, ADP e piruvato e outros metabólitos importantes na função mitocondrial (Figura 6.7). Mover íons ou moléculas através dessa membrana requer carreadores ou sistemas de transporte especializados. A membrana mitocondrial interna é excepcionalmente rica em proteínas; metade delas está envolvida de modo direto no transporte de elétrons e na fosforilação oxidativa. A membrana mitocondrial interna apresenta-se altamente convoluta. Essas dobras ou convoluções são denominadas cristas e aumentam muito a superfície da membrana.
2. **A matriz mitocondrial.** Essa solução semelhante a um gel encontrada no interior da mitocôndria apresenta constituição de 50% de proteína. Essas moléculas incluem as enzimas responsáveis pela oxidação do piruvato, dos aminoácidos, dos ácidos graxos (por β -oxidação) e aquelas do ciclo do ácido cítrico. As sínteses da glicose, da ureia e do heme ocorrem parcialmente na matriz mitocondrial. Além disso, a matriz contém NAD^+ e FAD (as formas oxidadas das duas coenzimas necessárias como aceptoras de hidrogênio) e ADP e P_i , utilizados para produzir ATP. (Nota: a matriz também contém RNA e DNA mitocondriais [RNAm e DNAm] e ribossomos mitocondriais.)

B. Organização da cadeia transportadora de elétrons

A membrana mitocondrial interna pode ser rompida, produzindo cinco complexos proteicos separados, denominados Complexos I, II, III, IV e V. Os Complexos de I a IV contêm parte da cadeia transportadora de elétrons (Figura 6.8). Cada complexo aceita ou doa elétrons, que são trocados entre esses complexos e carreadores de elétrons relativamente móveis, como a coenzima Q e o citocromo c. Cada carreador, na cadeia transportadora de elétrons, pode receber elétrons de um doador e, posteriormente, pode doá-los para o próximo carreador na cadeia. Os elétrons combinam-se, no final, com o oxigênio e com prótons, formando água. Essa necessidade de oxigênio dá ao processo de transporte de elétrons a denominação de cadeia respiratória, responsável pela maior parte da utilização de oxigênio no organismo. O complexo V é um complexo de proteínas que contém um domínio (F_o) que atravessa a membrana mitocondrial interna e um domínio (F_1) que se projeta como uma esfera para dentro da matriz mitocondrial (veja a p. 78). O complexo V catalisa a síntese de ATP e, desse modo, é denominado *ATP-sintase*.

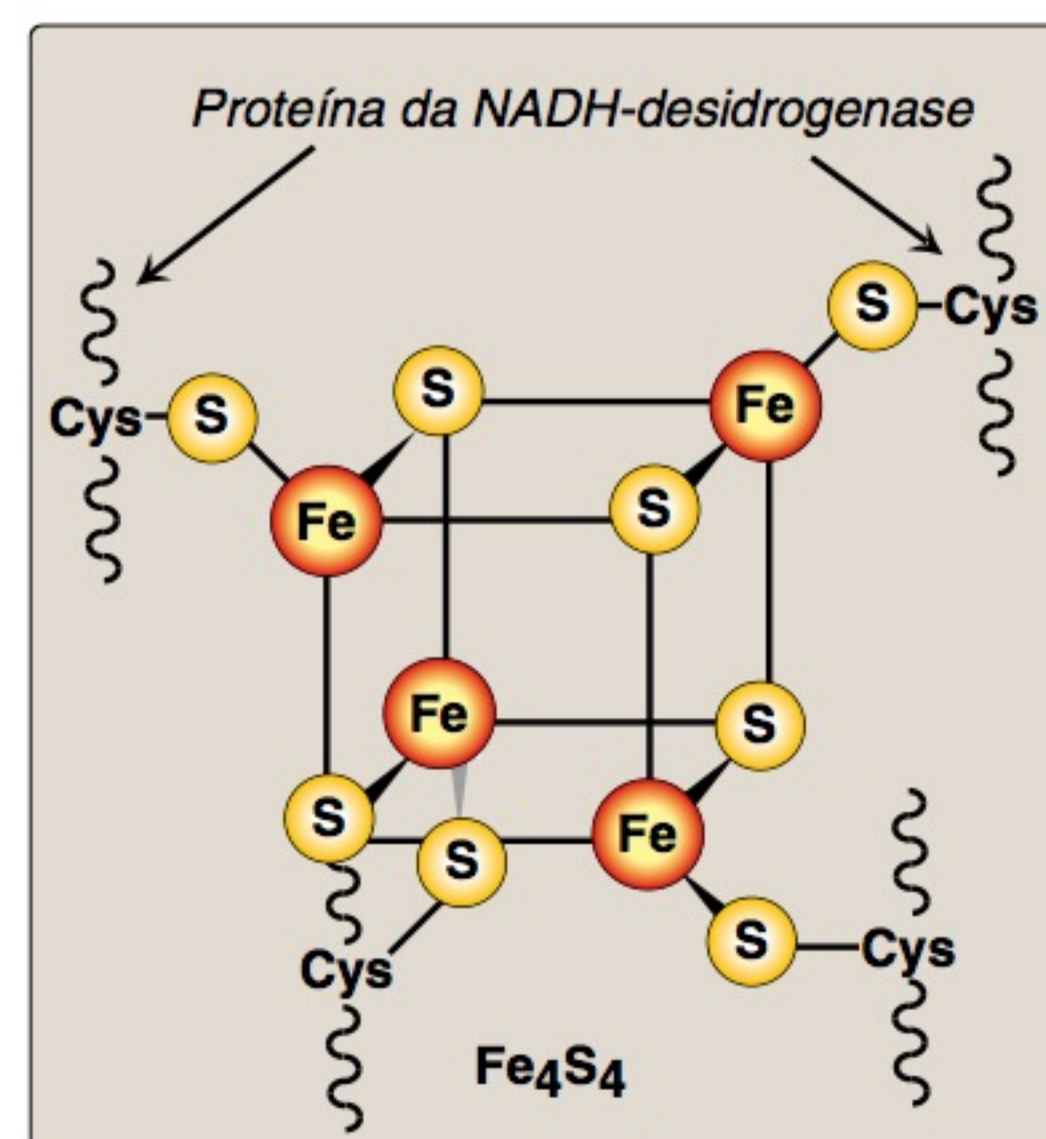
C. Reações da cadeia transportadora de elétrons

Com exceção da coenzima Q, todos os membros dessa cadeia são proteínas. Eles podem: funcionar como enzimas, como é o caso das *desidrogenases*; conter ferro como parte de um centro ferro-enxofre; estar coordenadas com um anel porfirina, como ocorre com os citocromos; ou conter cobre, como no complexo citocromo a + a_3 .

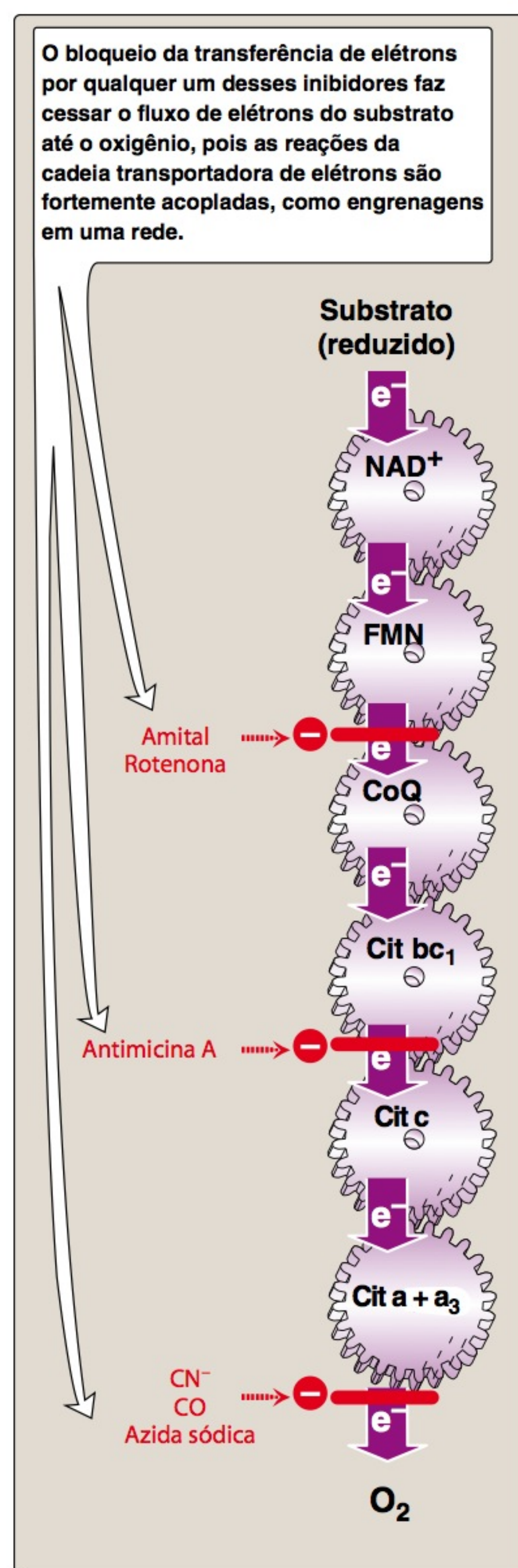

Figura 6.8

Cadeia de transporte de elétrons. O NADH, produzido a partir de vários processos oxidativos (catabólicos) é substrato para o Complexo I. O succinato, um intermediário do ciclo do ácido cítrico, é substrato para o Complexo II.

- 1. Formação de NADH.** O NAD^+ é reduzido a NADH por desidrogenases que removem dois átomos de hidrogênio de seus substratos (para exemplos dessas reações, veja a discussão a respeito das *desidrogenases* que participam do ciclo do ácido cítrico na p. 112). Ambos os elétrons, mas apenas um próton (ou seja, um íon hidreto, :H^-), são transferidos ao NAD^+ , formando NADH mais um próton livre, H^+ .
- 2. NADH-desidrogenase.** A seguir, o próton livre mais o íon hidreto carregado pelo NADH são transferidos para a *NADH-desidrogenase*, um complexo proteico (Complexo I) embebido na membrana mitocondrial interna. Esse complexo possui uma molécula de flavina-mononucleotídeo (FMN, coenzima estruturalmente relacionada ao FAD; veja a Figura 28.15, p. 380) fortemente ligada, que aceita os dois átomos de hidrogênio ($2\text{e}^- + 2\text{H}^+$), tornando-se FMNH_2 . A *NADH-desidrogenase* também contém diversos átomos de ferro pareados com átomos de enxofre, constituindo centros ferro-enxofre (Figura 6.9). Esses centros são necessários para a transferência dos átomos de hidrogênio para o próximo membro da cadeia, a coenzima Q (ubiquinona).
- 3. Coenzima Q.** A coenzima Q (CoQ) é um derivado de quinona, com cauda isoprenoide longa e hidrofóbica. É também denominada ubiquinona, por sua ubiquidade nos sistemas biológicos. A coenzima Q pode aceitar átomos de hidrogênio tanto do FMNH_2 , produzido na *NADH-desidrogenase* (Complexo I), quanto do FADH_2 , produzido na *succinato-desidrogenase* (Complexo II), na *glicerofosfato-desidrogenase* (veja a p. 79) e na *acil-CoA-desidrogenase* (veja a p. 192). A CoQ transfere elétrons para o Complexo III. Portanto, a CoQ atua como elo entre as flavoproteínas e os citocromos.
- 4. Citocromos.** Os demais membros da cadeia de transporte de elétrons são citocromos. Cada um deles apresenta um grupo heme, constituído por um anel porfirina contendo um átomo de ferro. Dis-


Figura 6.9

Centro ferro-enxofre do Complexo I. (Nota: os Complexos II e III também contêm centros ferro-enxofre.)

**Figura 6.10**

Inibidores de sítios específicos no transporte de elétrons, mostrados através de um modelo mecânico para o acoplamento das reações de oxidação-redução. (Nota: a figura ilustra a direção normal do fluxo de elétrons.)

tintamente do que ocorre no grupo heme da hemoglobina, o átomo de ferro dos citocromos é convertido reversivelmente de sua forma de íon férrico (Fe^{3+}) para íon ferroso (Fe^{2+}), como parte normal de sua função de carreador reversível de elétrons. Os elétrons fluem ao longo da cadeia, desde a coenzima Q, pelos citocromos b e c₁ (Complexo III), citocromo c, e citocromos a + a₃ (Complexo IV, veja a Figura 6.8). (Nota: o citocromo c está associado à face externa da membrana interna e, como a CoQ, é um carreador móvel de elétrons.)

- 5. Citocromo a + a₃.** Esse complexo de citocromos é o único carreador de elétrons em que o ferro do heme possui um sítio de coordenação disponível que pode reagir diretamente com o oxigênio molecular, de modo que esse complexo também é denominado *citocromo-oxidase*. Neste sítio, os elétrons transportados, o oxigênio molecular e os prótons livres são reunidos para formar água (Figura 6.8). A *citocromo-oxidase* contém átomos de cobre ligados, necessários para que essa complexa reação ocorra.
- 6. Inibidores de sítios específicos.** Inibidores de sítios específicos na cadeia transportadora de elétrons têm sido identificados e são ilustrados na Figura 6.10. Esses compostos previnem a passagem de elétrons ligando-se a algum componente da cadeia e bloqueando a reação de oxidação/redução. Desse modo, todos os carreadores de elétrons antes do bloqueio são completamente reduzidos, enquanto aqueles localizados após o bloqueio são oxidados. (Nota: a inibição do transporte de elétrons também inibe a síntese de ATP, pois estes processos são fortemente acoplados.)

A redução incompleta do oxigênio em água produz espécies reativas de oxigênio (EROs), como o radical superóxido ($\text{O}_2^\bullet$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\text{OH}^\bullet$). EROs induzem lesões no DNA e em proteínas e causam peroxidação de lipídeos. Enzimas como a *superóxido-dismutase* (SOD), a *catalase* e a *glutathiona-peroxidase* participam das defesas celulares contra as EROs.

D. Liberação de energia livre durante o transporte de elétrons

A energia livre é liberada à medida que os elétrons são transferidos, ao longo da cadeia transportadora de elétrons, de um doador (agente redutor) para um receptor (agente oxidante). Os elétrons podem ser transferidos como íons hidreto (:H^-) para o NAD⁺, como átomos de hidrogênio ($\text{H}^\bullet$) para o FMN, para a coenzima Q e para o FAD ou como elétrons (e^-) para os citocromos.

- 1. Pares redox.** A oxidação (perda de elétrons) de um composto é sempre acompanhada pela redução (ganho de elétrons) de uma segunda substância. Por exemplo, a Figura 6.11 mostra a oxidação do NADH a NAD⁺, acompanhada pela redução do FMN a FMNH₂. Tais reações de oxidação-redução podem ser escritas como a soma de duas semirreações: uma reação de oxidação e uma reação separada de redução (Figura 6.11). NAD⁺ e NADH formam um par redox, assim como FMN e FMNH₂. Os pares redox diferem em sua tendência de perder elétrons. Essa tendência é característica de cada par redox e pode ser expressa quantitativamente por uma constante, E_0 (o potencial de redução padrão), com unidades em volts.

- Potencial de redução padrão (E_o).** Os potenciais de redução padrão para vários pares redox podem ser listados, desde o mais negativo até o mais positivo E_o . Quanto mais negativo for o E_o de um par redox, maior será a tendência da forma redutora desse par em perder elétrons. Quanto mais positivo for o E_o , maior a tendência da forma oxidante daquele par em aceitar elétrons. Desse modo, os elétrons fluirão do par com E_o mais negativo para aquele par com E_o mais positivo. Os valores de E_o para alguns membros da cadeia de transporte de elétrons são mostrados na Figura 6.12. (Nota: os componentes da cadeia de transporte de elétrons estão organizados segundo seus valores de E_o , que se tornam progressivamente mais positivos.)
- ΔG° está relacionado com ΔE_o .** A variação na energia livre está diretamente relacionada com a magnitude da variação do E_o :

$$\Delta G^\circ = -n F \Delta E_o$$

n = número de elétrons transferidos (1 para um citocromo, 2 para NADH, $FADH_2$ e coenzima Q)

F = constante de Faraday (23,1 kcal/volt · mol)

$\Delta E_o = E_o$ do par aceptor de elétrons menos E_o do par doador de elétrons

ΔG° = variação padrão de energia livre

- ΔG° para o ATP.** A energia livre padrão para a fosforilação do ADP a ATP é +7,3 kcal/mol. O transporte de um par de elétrons do NADH para o oxigênio, por meio da cadeia transportadora de elétrons, produz 52,58 kcal. Portanto, energia mais que suficiente é disponibilizada para produzir 3 ATPs a partir de 3 ADPs e 3 P_i ($3 \times 7,3 = 21,9$ kcal/mol), às vezes expressos como uma razão P:O (ATP produzido por átomo de oxigênio reduzido) de 3:1. As calorías restantes são utilizadas em outras reações ou liberadas como calor. (Nota: a razão P:O para o $FADH_2$ é de 2:1, pois os elétrons não fluem pelo Complexo I.)

VI. FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

A transferência de elétrons ao longo da cadeia de transporte de elétrons é energeticamente favorecida, pois o NADH é um forte doador de elétrons, e o oxigênio molecular é um ávido aceptor de elétrons. O fluxo de elétrons do NADH para o oxigênio, porém, não resulta diretamente na síntese de ATP.

A. A hipótese quimiosmótica

A hipótese quimiosmótica (também conhecida como hipótese de Mitchell) explica como a energia livre gerada pelo transporte de elétrons por meio da cadeia transportadora de elétrons é utilizada para produzir ATP a partir de ADP + P_i .

- A bomba de prótons.** O transporte de elétrons está acoplado à fosforilação do ADP pelo transporte ("bombeamento") de prótons (H^+) através da membrana mitocondrial interna. Esses prótons são bombeados da matriz para o espaço intermembranas pelos Complexos I, III e IV. Esse processo cria, através da membrana mitocondrial interna, um gradiente elétrico (com cargas mais positivas no lado externo da membrana do que no lado interno) e um gradiente de pH (o meio externo da membrana está em pH mais baixo do que o meio interno; Figura 6.13). A energia gerada por esse gradiente de

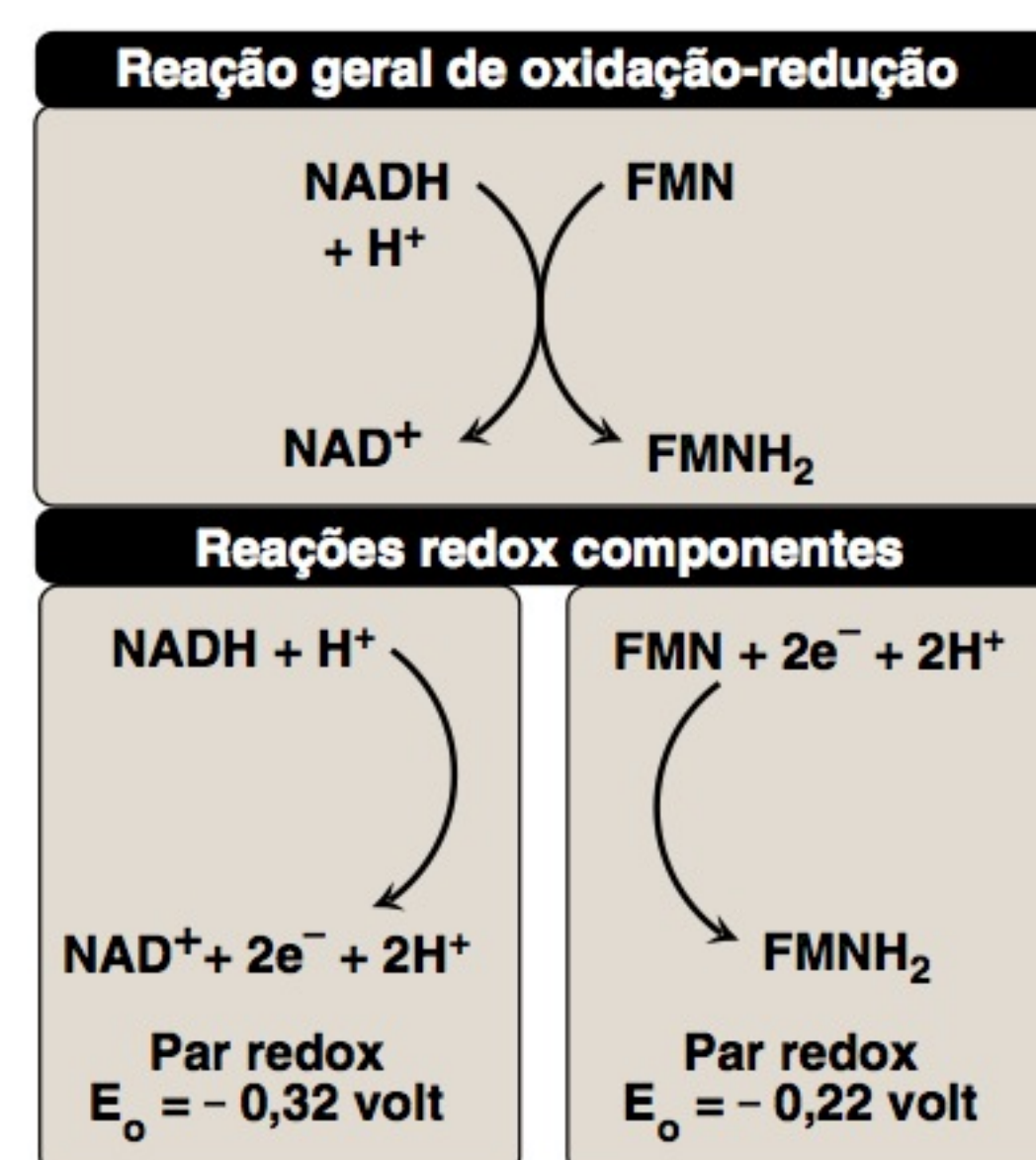


Figura 6.11

Oxidação do NADH pelo FMN, separados nos dois pares redox componentes.

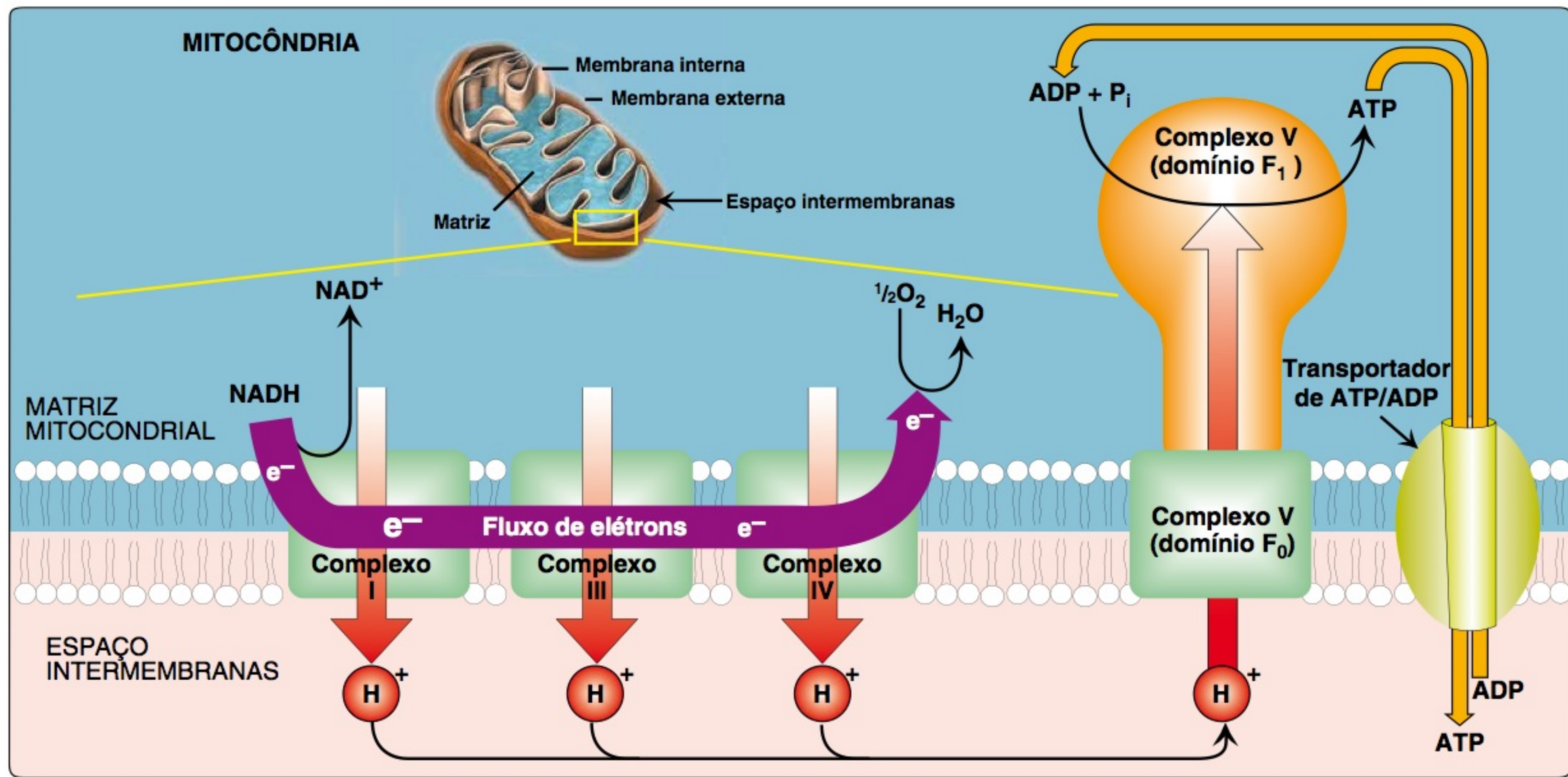
Compostos com E_o bastante negativo (localizados na parte superior da tabela) são fortes agentes redutores – ou seja, apresentam uma grande tendência de perder elétrons.

Par redox	E_o (volts)
NAD ⁺ /NADH	-0,32
FMN/FMNH ₂	-0,22
Citocromo c Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0,22
1/2 O ₂ /H ₂ O	+0,82

Os compostos na parte inferior da tabela são fortes agentes oxidantes – isto é, eles facilmente recebem elétrons.

Figura 6.12

Potenciais de redução padrão de algumas reações.

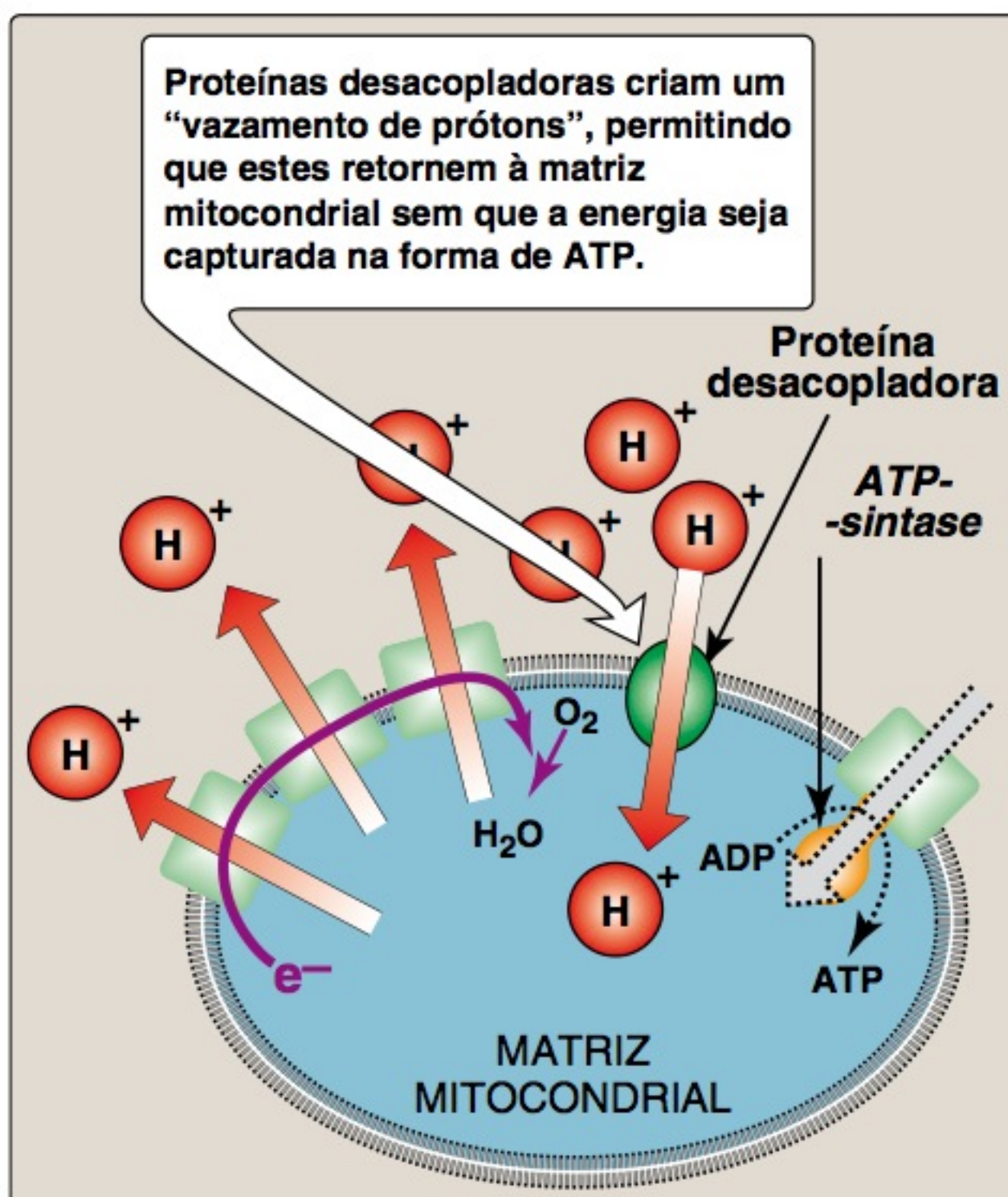
**Figura 6.13**

Cadeia transportadora de elétrons, mostrada acoplada ao transporte de prótons. (Nota: prótons não são bombeados pelo Complexo II.)

prótons é suficiente para impulsionar a síntese de ATP. Desse modo, o gradiente de prótons funciona como o intermediário comum que acopla a oxidação à fosforilação.

2. **A ATP-sintase.** O complexo enzimático *ATP-sintase* (Complexo V, veja a Figura 6.13) sintetiza ATP, utilizando a energia do gradiente de prótons gerado pela cadeia transportadora de elétrons. (Nota: essa enzima também é chamada F_1/F_0 -ATPase, pois a enzima isolada também catalisa a hidrólise de ATP em ADP e fosfato inorgânico.) Conforme propõe a hipótese quimiosmótica, após os prótons serem transferidos para o lado citosólico da membrana mitocondrial interna, eles retornam à matriz mitocondrial, passando por um canal no domínio que atravessa a membrana (F_0) do Complexo V. Isso força a rotação de F_0 , ao mesmo tempo em que os gradientes elétrico e de pH são dissipados. A rotação de F_0 causa alterações conformacionais no domínio extramembrana F_1 , permitindo que ADP e P_i sejam ligados a este domínio, o ADP fosforilado em ATP, que será liberado.

- a. **Oligomicina:** Esse fármaco se liga ao domínio F_0 (daí a letra “o”) da *ATP-sintase*, fechando o canal de H^+ e impedindo o retorno dos prótons à matriz mitocondrial, prevenindo assim a fosforilação de ADP em ATP. Uma vez que os gradientes de pH e elétrico não podem ser dissipados na presença desse fármaco, o transporte de elétrons cessa, devido à dificuldade de bombear mais prótons contra gradientes tão grandes. Assim, a respiração celular depende da capacidade de fosforilar ADP em ATP. Essa dependência, conhecida como controle respiratório, é consequência do forte acoplamento entre esses processos. Demonstra-se, assim, mais uma vez, o forte acoplamento entre os processos de transporte de elétrons e fosforilação. A inibição de um destes processos inibe o outro. (Nota: o controle respiratório também resulta de uma diminuição na disponibilidade de ADP ou P_i .)

**Figura 6.14**

Transporte de H^+ através da membrana mitocondrial por proteínas desacopladoras.

b. Proteínas desacopladoras (UCPs, de *uncoupling proteins*). As UCPs são proteínas encontradas na membrana mitocondrial interna de mamíferos, incluindo humanos. Essas proteínas criam um “vazamento de prótons”, ou seja, permitem que os prótons retornem à matriz mitocondrial sem que a energia seja capturada como ATP (Figura 6.14). A energia é liberada na forma de calor, e o processo é denominado termogênese sem tremor. A UCP1, também denominada termogenina, é responsável pela produção de calor nos adipócitos marrons dos mamíferos. A UCP1 é ativada por ácidos graxos. A gordura marrom, ao contrário da gordura branca, mais abundante, gasta quase 90% de sua energia respiratória para a termogênese em resposta ao frio, tanto no nascimento quanto no despertar após a hibernação, no caso de animais hibernantes. Os humanos, porém, apresentam pouca gordura marrom (exceto no recém-nascido), e a UCP1 não parece desempenhar papel importante no balanço energético. (Nota: outras proteínas desacopladoras [UCP2, UCP3] foram descobertas nos humanos, mas seu significado ainda não está bem determinado.)

c. Desacopladores sintéticos. O transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa podem ser desacoplados por meio de compostos que aumentam a permeabilidade da membrana mitocondrial interna a prótons. O exemplo clássico é o 2,4-dinitrofenol, transportador de prótons lipofílico que difunde facilmente através da membrana mitocondrial. Devido à ação desse desacoplador, o transporte de elétrons funciona em alta velocidade, sem estabelecer um gradiente de prótons, de forma semelhante ao que ocorre com as UCPs (Figura 6.14). Também neste caso, a energia produzida pelo transporte de elétrons é liberada como calor, em vez de ser utilizada para sintetizar ATP. Em doses altas, a Aspirina® (assim como outros salicilatos) desacopla a fosforilação oxidativa. Isso explica a febre que acompanha superdoses tóxicas dessas drogas.

B. Sistemas de transporte através da membrana

A membrana mitocondrial interna é impermeável à maior parte das substâncias hidrofílicas ou com carga. Porém, essa membrana contém numerosas proteínas de transporte que permitem a passagem de moléculas específicas desde o citosol (ou, mais corretamente, o espaço intermembranas) até a matriz mitocondrial.

- 1. Transporte de ATP-ADP.** A membrana mitocondrial interna requer transportadores específicos para transportar o ADP e o P_i do citosol (onde o ATP é utilizado e convertido em ADP em muitas reações que requerem energia) para dentro da mitocôndria, onde o ATP pode ser novamente sintetizado. Um carreador de nucleotídeos da adenina transporta uma molécula de ADP do citosol para a mitocôndria, enquanto exporta um ATP da matriz para o citosol (Figura 6.13). (Nota: um transportador de fosfato é responsável pelo transporte do P_i do citosol para a mitocôndria.)
- 2. Transporte de equivalentes redutores.** A membrana mitocondrial interna não possui uma proteína transportadora de NADH, de modo que o NADH produzido no citosol não pode penetrar diretamente na matriz mitocondrial. Os dois elétrons do NADH (também denominados equivalentes redutores), no entanto, são transportados do citosol para a matriz utilizando mecanismos de lançadeiras. Na lançadeira do glicerol-fosfato (Figura 6.15A), dois elétrons são transfe-

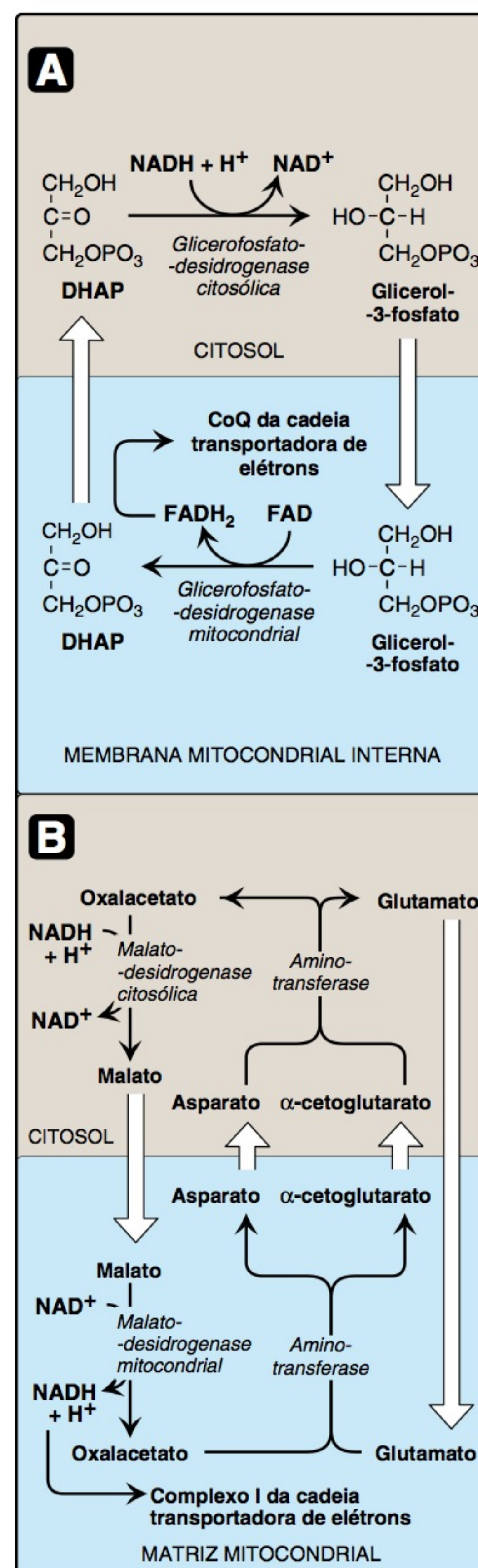
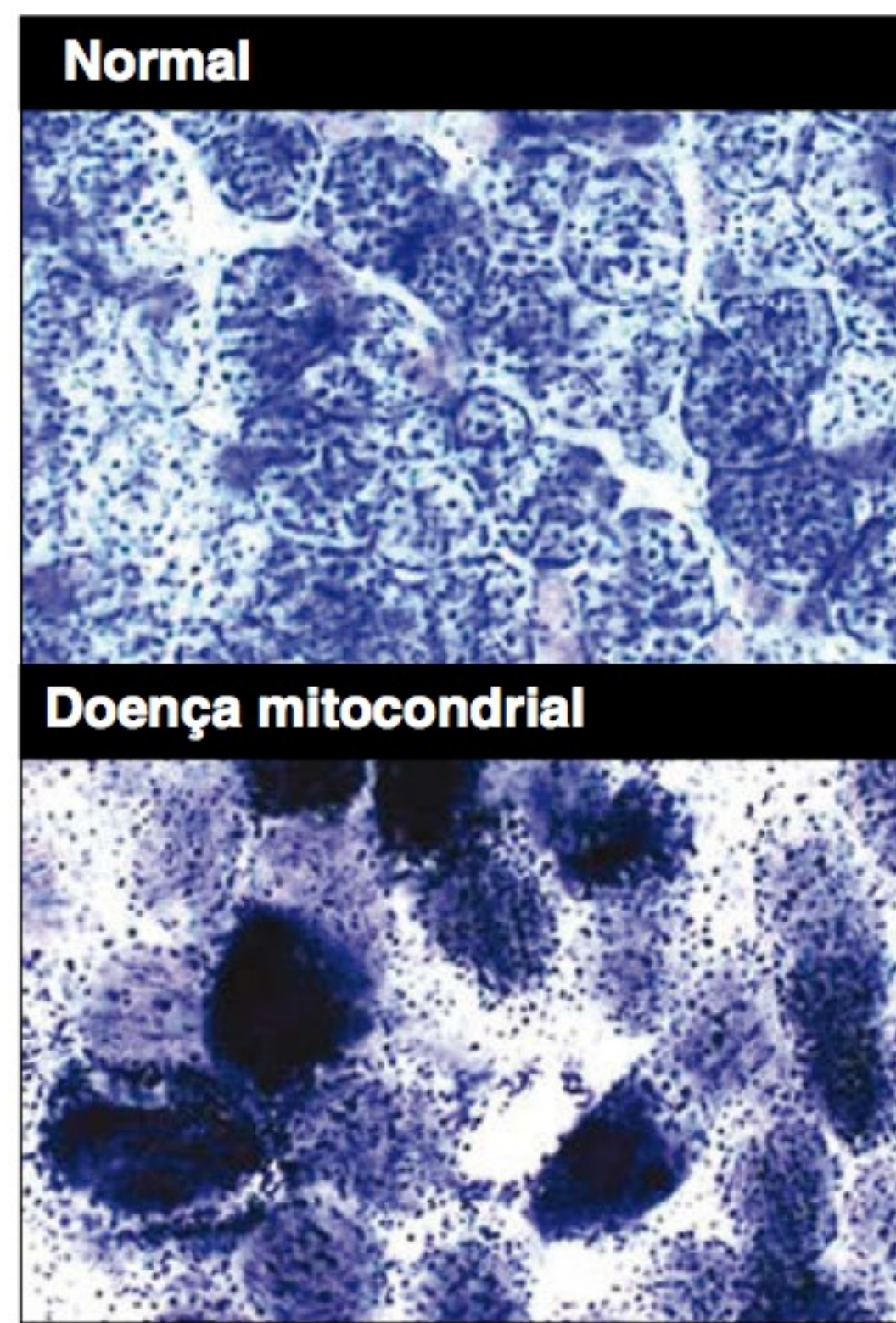


Figura 6.15

Lançadeiras para o transporte de elétrons através da membrana mitocondrial interna. A. Lançadeira do glicerol-3-fosfato. B. Lançadeira do malato-aspartato. DHAP = di-hidroxiacetona-fosfato.

**Figura 6.16**

Fibras musculares de um paciente com miopatia mitocondrial, mostrando proliferação anormal de mitocôndrias quando coradas para a succinato-desidrogenase, uma enzima do Complexo II.

ridos do NADH para a di-hidroxiacetona-fosfato, pela *glicerofosfato-desidrogenase* citosólica. O glicerol-3-fosfato produzido é oxidado pela isozima mitocondrial, enquanto o FAD é reduzido a FADH_2 , que, então, doa seus elétrons para a CoQ da cadeia de transporte de elétrons. A lançadeira do glicerolfosfato, portanto, resulta na síntese de dois ATPs para cada NADH citosólico oxidado. Isso contrasta com a lançadeira do malato-aspartato (Figura 6.15B), que produz NADH (em vez de FADH_2) na matriz mitocondrial e leva, desse modo, à produção de três ATPs para cada NADH citosólico oxidado pela *malato-desidrogenase*, enquanto o oxalacetato é reduzido a malato. Uma proteína transportadora carrega o malato para a matriz.

C. Deficiências hereditárias da fosforilação oxidativa

Treze dos aproximadamente 120 polipeptídeos necessários para a fosforilação oxidativa são codificados pelo DNA mitocondrial (DNAm) e sintetizados na mitocôndria, enquanto as demais proteínas mitocondriais são sintetizadas no citosol e transportadas para a mitocôndria. Deficiências na fosforilação oxidativa, mais provavelmente, resultam de alterações no DNAm, que apresenta taxa de mutações cerca de 10 vezes maior que o DNA nuclear. Tecidos com maiores necessidades de ATP (p. ex., sistema nervoso central, músculos esquelético e cardíaco, rins e fígado) são mais afetados por deficiências na fosforilação oxidativa. Mutações no DNAm são responsáveis por diversas doenças, incluindo alguns casos de miopatias mitocondriais (Figura 6.16) e a neuropatia óptica hereditária de Leber, doença que causa perda bilateral da visão central, como resultado da degeneração neurorretiniana, incluindo lesão do nervo óptico. O DNAm é herança materna, pois as mitocôndrias do espermatozoide não penetram na célula-ovo.

D. Mitocôndria e apoptose

O processo de apoptose ou morte celular programada pode ser iniciado pela via intrínseca (mediada pela mitocôndria), pela formação de poros na membrana mitocondrial externa. Esses poros permitem que o citocromo c deixe o espaço intermembranas e entre no citosol. Uma vez no citosol, o citocromo c, em associação com fatores pró-apoptóticos, ativa uma família de enzimas proteolíticas (as *caspases*), causando a clivagem de proteínas-chave e resultando em alterações morfológicas e bioquímicas características da apoptose.

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

A variação na **energia livre (ΔG)** que ocorre durante uma reação prediz o sentido no qual aquela reação ocorrerá espontaneamente. Se o **ΔG é negativo** (ou seja, o produto apresenta menor energia livre que o substrato), a **reação ocorre espontaneamente**. Se o **ΔG é positivo**, a reação **não ocorre espontaneamente**. Se o **$\Delta G = 0$** , a reação está em **equilíbrio**. O **ΔG** de uma reação no sentido direto ($A \rightarrow B$) é igual em magnitude, mas de sinal oposto, àquele da reação inversa ($B \rightarrow A$). **Variações de energia livre (ΔG)** são **aditivas** em qualquer sequência de reações consecutivas, como o são as variações de energia livre padrão (ΔG°). Portanto, a ocorrência de reações ou processos que apresentem **ΔG bastante positivo** torna-se possível pelo **acoplamento** com a hidrólise de **trifosfato de adenosina (ATP)**, que apresenta **ΔG bastante negativo**. As coenzimas reduzidas **NADH** e **FADH_2** doam, cada uma delas, um par de elétrons para um conjunto especializado de transportadores de

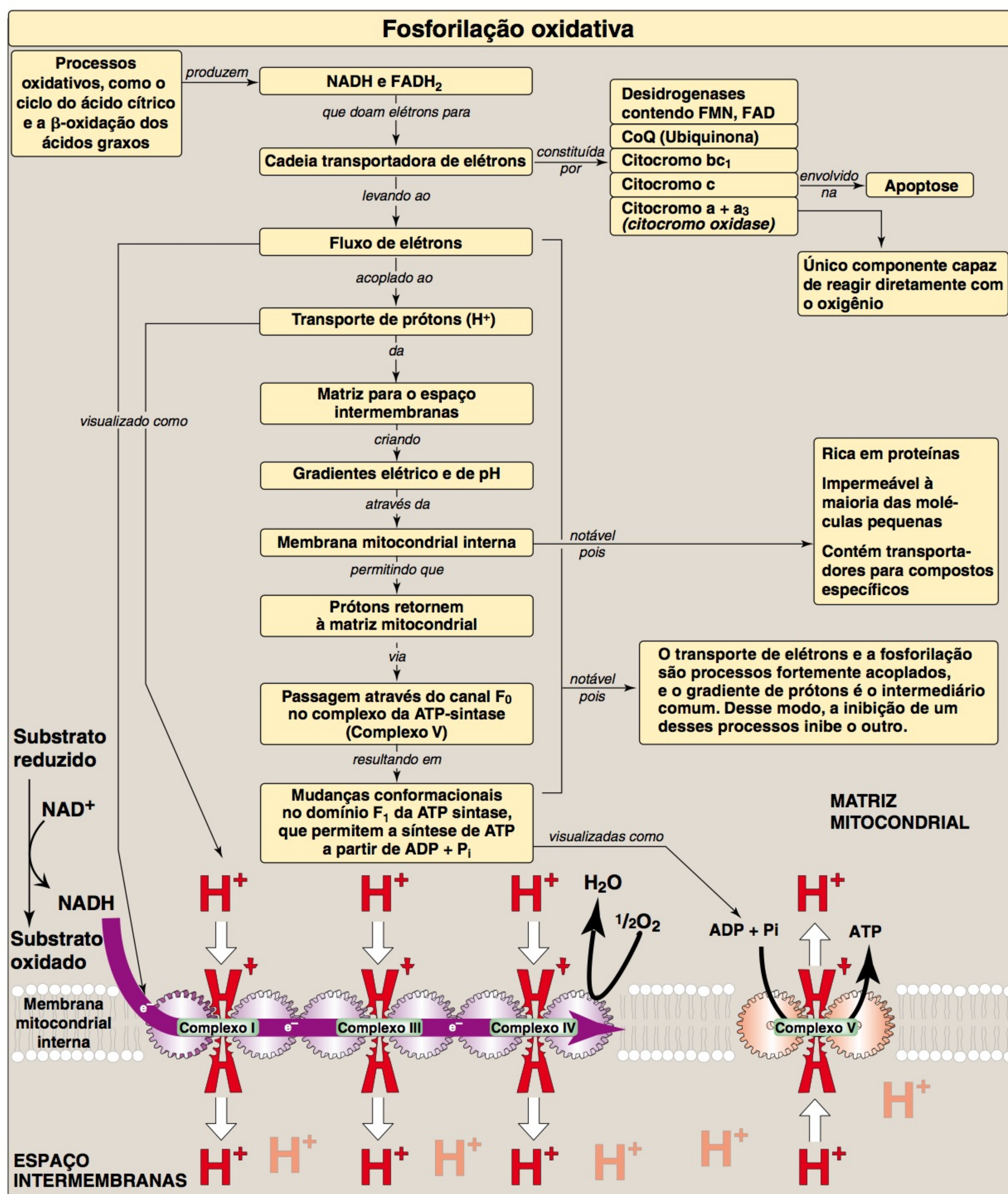


Figura 6.17

Resumo de conceitos-chave para a fosforilação oxidativa. (Nota: o fluxo de elétrons e a síntese de ATP são representados como conjuntos de engrenagens interconectadas para enfatizar a ideia de acoplamento.)

elétrons, consistindo em **FMN**, **coenzima Q** e uma série de **citocromos**, coletivamente denominados **cadeia transportadora de elétrons**. Essa via está presente na **membrana mitocondrial interna**; é a via final comum pela qual os elétrons provenientes de diversos combustíveis do organismo fluem até o oxigênio, reduzindo-o a água. O último citocromo, citocromo oxidase, é o único citocromo capaz de ligar oxigênio. O **transporte de elétrons** está acoplado ao **transporte de prótons (H^+)** através da membrana mitocondrial interna, desde a matriz até o espaço intermembranas. Esse processo cria um **gradiente elétrico** e um **gradiente de pH** através da membrana mitocondrial interna. Após os prótons serem transferidos para o lado citosólico da membrana mitocondrial interna, eles podem voltar à matriz mitocondrial, passando por um canal (F_o) no complexo **ATP-sintase (Complexo V)**; dissipando os gradientes de pH e elétrico e causando alterações conformacionais em F_1 , que resultam na síntese de ATP a partir de ADP e P_i . Desse modo, diz-se que o **transporte de elétrons** e a **fosforilação** estão **fortemente acoplados** (Figura 6.17). A inibição de um processo inibe o outro. Esses processos podem ser **desacoplados** por **proteínas desacopladoras** encontradas na membrana mitocondrial interna e por compostos sintéticos como o **2,4-dinitrofenol** e a **Aspirina®**, que aumentam a permeabilidade da membrana mitocondrial interna a prótons. A energia produzida pelo transporte de elétrons é, nesse caso, liberada como **calor**, em vez de ser utilizada para a síntese de ATP. Mutações no **DNA mitocondrial (DNAm)** são responsáveis por alguns casos de **doenças mitocondriais**, como a **neuropatia óptica hereditária de Leber**. A liberação de citocromo c para o citoplasma e a subsequente ativação de caspases proteolíticas resultam em morte celular apoptótica.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 6.1 Uma biópsia muscular de um paciente com uma doença rara, a doença de Luft, mostrou mitocôndrias anormalmente grandes, que continham cristas dobradas quando examinadas ao microscópio eletrônico. A atividade ATPásica basal das mitocôndrias foi sete vezes maior que o normal. Por meio desses e de outros dados, concluiu-se que a oxidação e a fosforilação estavam parcialmente desacopladas. Qual das seguintes afirmativas sobre esse paciente está correta?
- A velocidade de transporte de elétrons é anormalmente baixa.
 - O gradiente de prótons através da membrana mitocondrial interna é maior que o normal.
 - Os níveis de ATP na mitocôndria são maiores que o normal.
 - O cianeto não inibiria o fluxo de elétrons.
 - O paciente apresenta hipermetabolismo e temperatura interna elevada.
- 6.2 Explique como e por que a lançadeira do malato-aspartato transporta equivalentes redutores do NADH desde o citosol até a matriz mitocondrial.
- 6.3 O CO liga-se ao Complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e inibe este complexo. Qual efeito (se é que haverá efeito) esse inibidor respiratório terá sobre a fosforilação oxidativa?

Resposta correta = E. Quando a fosforilação está parcialmente desacoplada do fluxo de elétrons, espera-se um decréscimo no gradiente de prótons através da membrana mitocondrial interna e, assim, prejuízo na síntese de ATP. Em uma tentativa de compensar essa deficiência na captura de energia, o metabolismo e o fluxo de elétrons até o oxigênio são aumentados. Esse hipermetabolismo será acompanhado por aumento na temperatura corporal, pois a energia dos combustíveis é em grande parte desperdiçada, aparecendo como calor. A cadeia transportadora de elétrons vai continuar sendo inibida pelo cianeto.

Não há transportador para o NADH na membrana mitocondrial interna. O NADH, contudo, pode ser oxidado a NAD^+ pela isozima citosólica da malato-desidrogenase, enquanto o oxalacetato é reduzido a malato. O malato é transportado através da membrana mitocondrial interna e a isozima mitocondrial da malato-desidrogenase o oxida a oxalacetato, ao mesmo tempo em que o NAD^+ mitocondrial é reduzido a NADH. Esse NADH pode ser oxidado pelo Complexo I da cadeia transportadora de elétrons, gerando três ATP por meio dos processos acoplados da respiração e da fosforilação oxidativa.

A inibição da cadeia transportadora de elétrons por inibidores respiratórios como o CO resulta na incapacidade de manter o gradiente de prótons. A fosforilação oxidativa é, portanto, inibida, assim como outras reações relacionadas, pois também requerem o gradiente de prótons.

Introdução aos Carboidratos

I. VISÃO GERAL

Os carboidratos são as moléculas orgânicas mais abundantes na natureza. Eles possuem grande variedade de funções, que incluem o fornecimento de fração significativa da energia na dieta da maioria dos organismos e a atuação como forma de armazenamento de energia no corpo e como componentes da membrana celular, mediando algumas formas de comunicação intercelular. Os carboidratos também servem como componentes estruturais de muitos organismos, incluindo a parede celular de bactérias, o exoesqueleto de muitos insetos e as fibras de celulose das plantas. A fórmula empírica para muitos dos carboidratos mais simples é $(CH_2O)_n$, daí o nome “hidratos de carbono”.

II. CLASSIFICAÇÃO E ESTRUTURA DOS CARBOIDRATOS

Os monossacarídeos (açúcares simples) podem ser classificados de acordo com o número de átomos de carbono que contêm. Exemplos de alguns monossacarídeos comumente encontrados em humanos estão listados na Figura 7.1. Os carboidratos com um aldeído como seu grupo funcional mais oxidado são denominados aldoses, enquanto aqueles com um grupo cetona como seu grupo funcional mais oxidado são chamados cetoses (Figura 7.2). Por exemplo, o gliceraldeído é uma aldose, enquanto a di-hidroxiacetona é uma cetose. Os carboidratos que apresentam um grupo carbonila livre recebem o sufixo “-ose”. (Nota: as cetoses [com algumas exceções, como a frutose] recebem duas letras adicionais no seu sufixo: “-ulose”, por exemplo, xilulose.) Os monossacarídeos podem se ligar por ligações glicosídicas, criando estruturas maiores (Figura 7.3). Os dissacarídeos contêm duas unidades de monossacarídeos, os oligossacarídeos contêm de três até cerca de 10 unidades de monossacarídeos e os polissacarídeos contêm mais de 10 unidades de monossacarídeos, podendo alcançar centenas de unidades de açúcares em sua estrutura.

Nomes genéricos	Exemplos
3 Carbonos: trioses	Gliceraldeído
4 Carbonos: tetroses	Eritrose
5 Carbonos: pentoses	Ribose
6 Carbonos: hexoses	Glicose
7 Carbonos: heptoses	Sedoeptulose
9 Carbonos: nonoses	Ácido neuramínico

Figura 7.1

Exemplos de monossacarídeos encontrados em humanos, classificados de acordo com o número de carbonos que contêm.

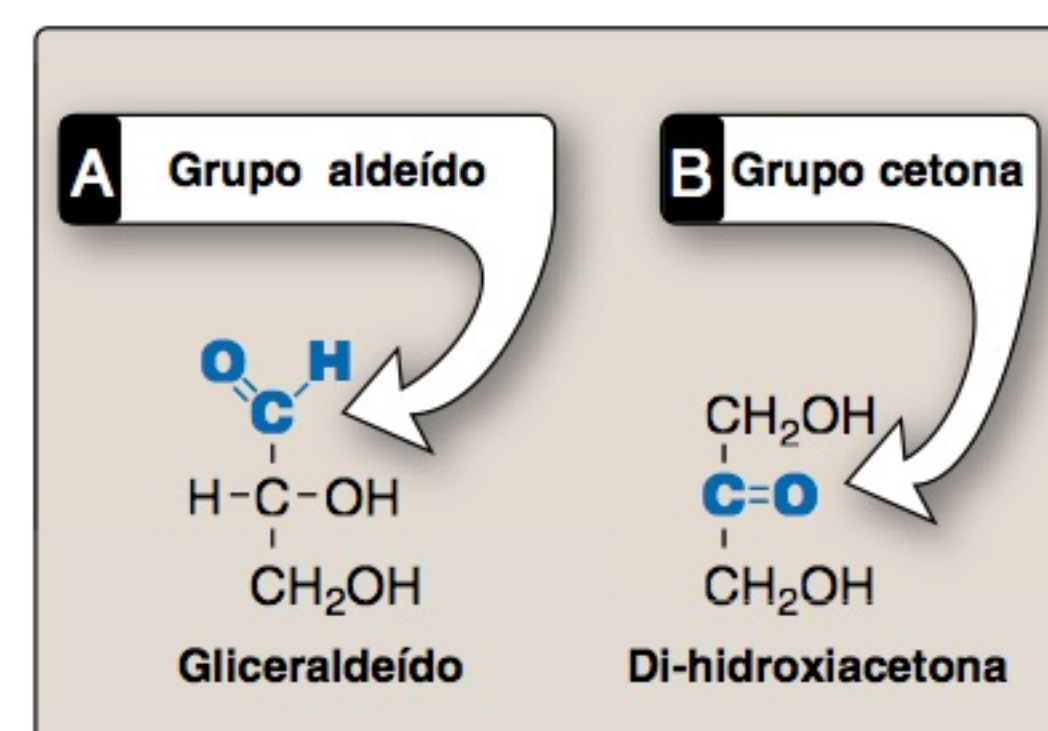
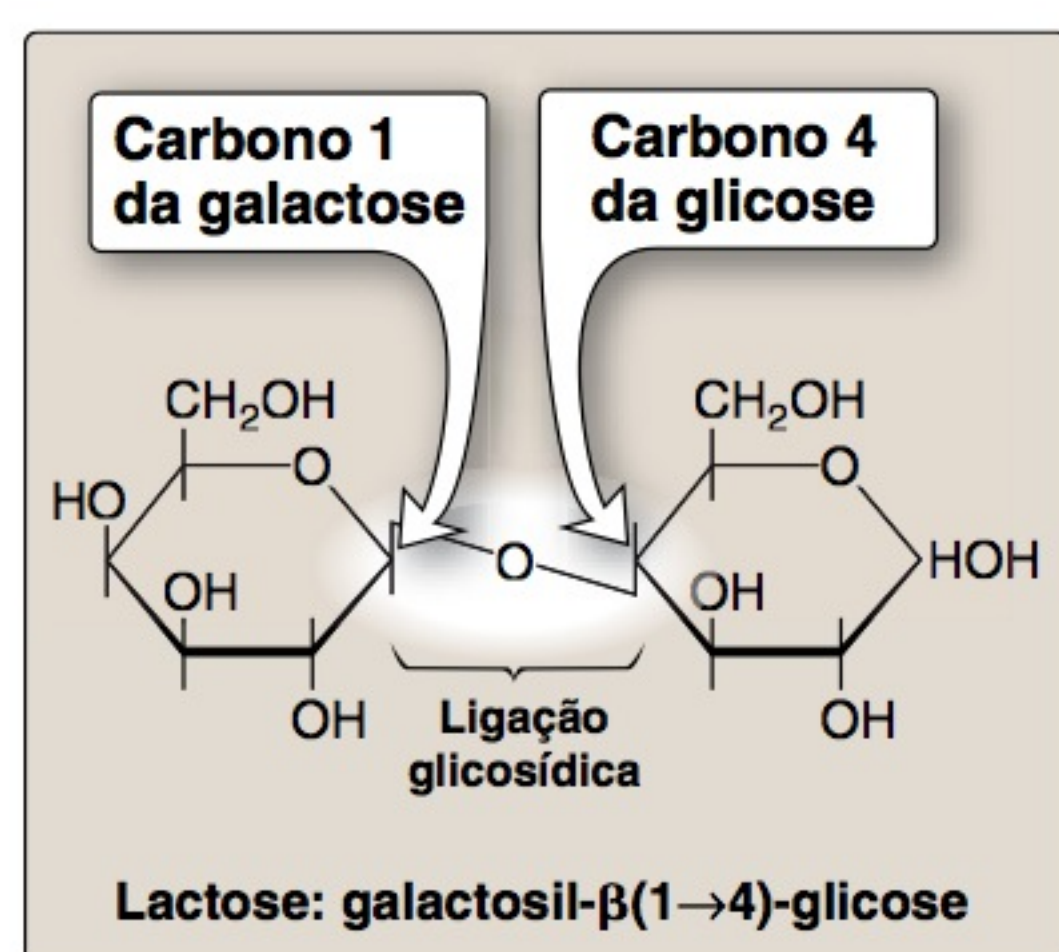


Figura 7.2

Exemplos de glicídeos do tipo aldose (A) e do tipo cetose (B).

**Figura 7.3**

Uma ligação glicosídica entre duas hexoses, produzindo um dissacarídeo.

A. Isômeros e epímeros

Compostos que apresentam a mesma fórmula química, mas estruturas diferentes, são denominados isômeros. Por exemplo, frutose, glicose, manose e galactose são todos isômeros uns dos outros, com a mesma fórmula química, $C_6H_{12}O_6$. Os carboidratos isômeros que diferem na sua configuração ao redor de apenas um determinado átomo de carbono (com exceção do carbono da carbonila, veja “anômeros”, a seguir) são definidos como epímeros um do outro. Por exemplo, a glicose e a galactose são epímeros em C-4 – suas estruturas diferem somente na posição do grupo $-OH$ no átomo de carbono 4. (Nota: nos açúcares, a numeração dos carbonos inicia na extremidade que contém o carbono da carbonila, ou seja, o grupo aldeído ou cetona [Figura 7.4].) A glicose e a manose são epímeros em C-2. A galactose e a manose, entretanto, NÃO são epímeros – elas diferem na posição dos grupos $-OH$ em dois átomos de carbono (2 e 4) e são, portanto, definidos somente como isômeros (Figura 7.4).

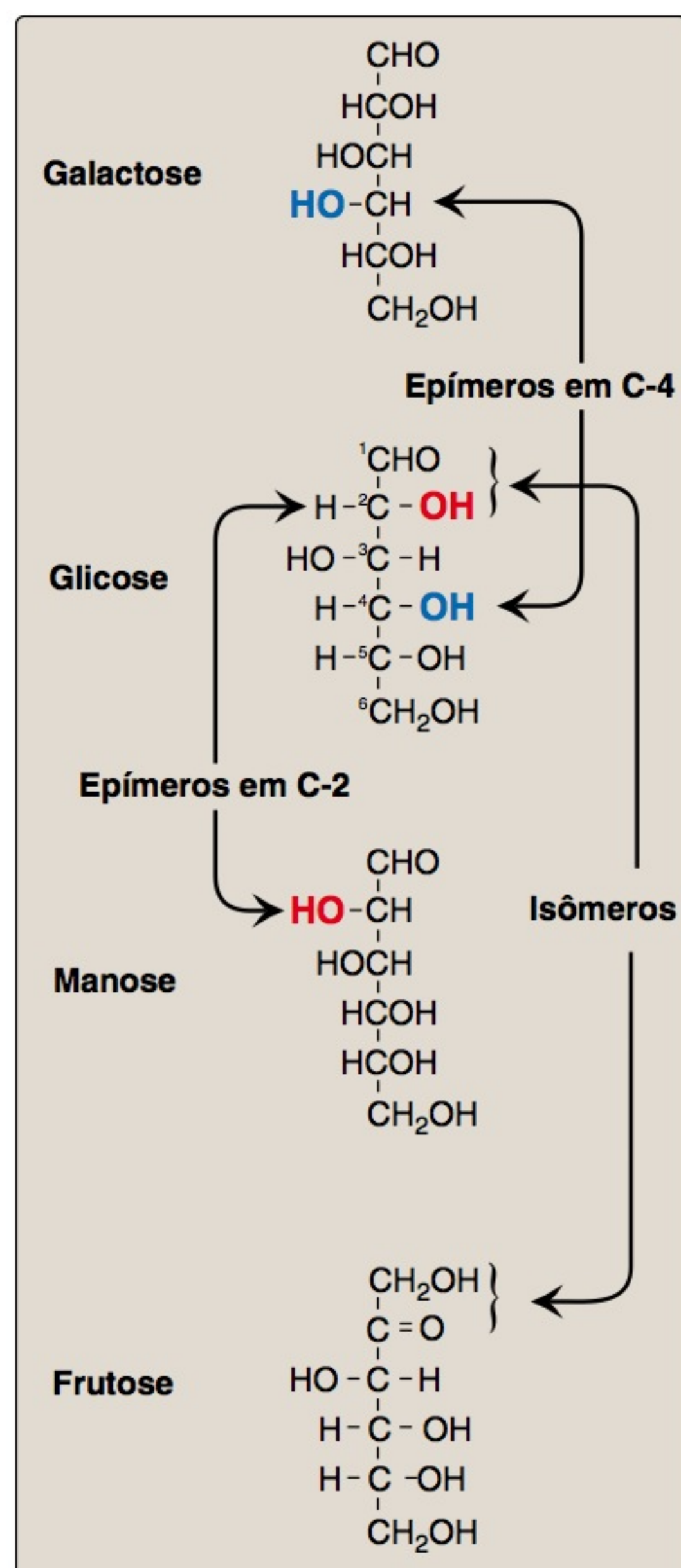
B. Enantiômeros

Um tipo especial de isomeria é observado em pares de estruturas que são como imagens uma da outra no espelho. Essas imagens especulares são denominadas enantiômeros, e os dois membros do par são designados como D- e L-açúcares (Figura 7.5). Em seres humanos, a grande maioria dos açúcares é do tipo D-açúcares. Na forma isomérica D, o grupo $-OH$ do carbono assimétrico (carbono ligado a quatro átomos ou grupos diferentes) mais distante do carbono da carbonila está à direita, enquanto no isômero L, está à esquerda. As enzimas denominadas *racemases* são capazes de interconverter isômeros D e L.

C. Ciclização de monossacarídeos

Menos de 1% dos monossacarídeos com cinco ou mais átomos de carbono ocorre na forma de cadeia aberta (acíclica). Ao contrário, eles são encontrados predominantemente na forma de anel (cíclica), na qual o grupo aldeído (ou cetona) reagiu com um grupo álcool do mesmo açúcar, tornando assimétrico o carbono carbonílico (carbono 1 para uma aldose ou carbono 2 para uma cetose). (Nota: o termo piranose refere-se a um anel de seis elementos, constituído por cinco carbonos e um oxigênio, por exemplo, glicopiranose [Figura 7.6], enquanto o termo furanose denota um anel formado por cinco elementos, com quatro carbonos e um oxigênio.)

- 1. Carbono anômero.** A ciclização cria um carbono anômero (o carbono que anteriormente fazia parte da carbonila), gerando as configurações α e β dos açúcares, por exemplo, α -D-glicopiranose e β -D-glicopiranose (Figura 7.6). Esses dois glicídeos são moléculas de glicose, mas são anômeros um do outro. (Nota: na configuração α , a OH do C anômero projeta-se para o mesmo lado do anel na fórmula de projeção de Fischer modificada [Figura 7.6A]. Na fórmula de projeção de Haworth da configuração α , a mesma OH está em posição trans em relação ao grupo CH_2OH [Figura 7.6B]. Uma vez que as formas α e β não são imagens especulares, elas são consideradas como diastereoisômeros.) As enzimas são capazes de distinguir entre essas duas estruturas e de utilizar uma delas preferencialmente. Por exemplo, o glicogênio é sintetizado a partir da α -D-glicopiranose, enquanto a celulose é sintetizada a partir da β -D-glicopiranose. Os anômeros cíclicos α e β de um glicídeo em solução estão em equilíbrio um com o outro e podem ser espontaneamente interconvertidos (um processo denominado mutarrotação, veja a Figura 7.6).

**Figura 7.4**

Epímeros em C-2 e em C-4 e um isômero da glicose.

2. **Glicídeos redutores.** Se o grupo hidroxila ligado ao carbono anômero de um glicídeo na forma cíclica não estiver ligado a qualquer outro composto por uma ligação glicosídica, o anel poderá ser aberto. Esse glicídeo poderá atuar como agente redutor, sendo denominado glicídeo redutor. Ele pode reagir com agentes cromogênicos (p. ex., o Reagente de Benedict ou a solução de Fehling), causando redução e coloração do reagente, enquanto o grupo aldeído do açúcar acíclico torna-se oxidado. (Nota: somente o estado do oxigênio no grupo aldeído determina se o glicídeo é redutor ou não redutor.)

Um teste colorimétrico pode determinar se um glicídeo redutor está presente na urina. O resultado positivo é indicativo de uma possível patologia, porque normalmente glicídeos não estão presentes na urina. Testes adicionais mais específicos podem ser realizados, a fim de identificar o açúcar redutor.

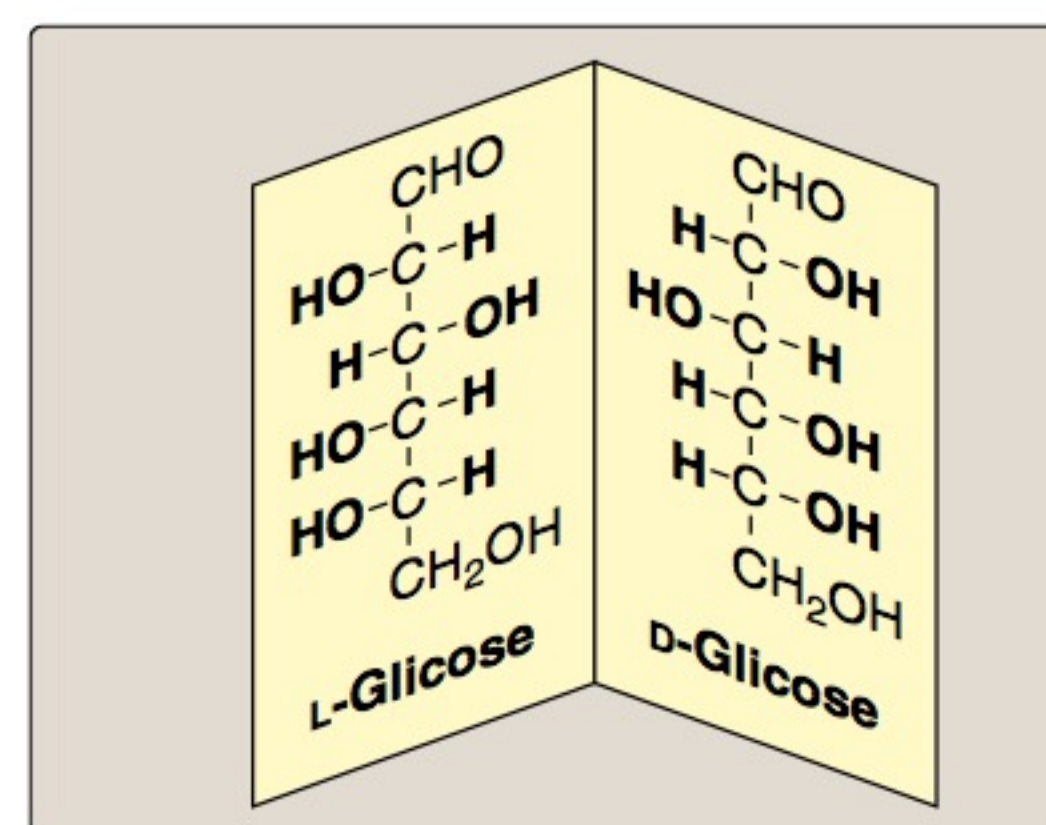


Figura 7.5

Enantiômeros (imagens especulares) da glicose.

D. Unindo monossacarídeos

Monossacarídeos podem ser ligados para formar dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Dissacarídeos importantes incluem a **lactose** (galactose + glicose), sacarose (glicose + frutose) e maltose (glicose + glicose). Polissacarídeos importantes incluem o glicogênio ramificado (proveniente de fontes animais), o amido (fontes vegetais) e a celulose não ramificada (fonte vegetal); cada um deles é um polímero de glicose. As ligações que unem os açúcares são denominadas ligações glicosídicas. Essas ligações são formadas por enzimas conhecidas como *glicosiltransferases*, que utilizam como substrato um nucleotídeo-açúcar, como a UDP-glicose.

1. **Denominação das ligações glicosídicas.** As ligações glicosídicas entre açúcares são denominadas conforme o número dos carbonos que estabelecem a conexão e também conforme posição do grupo hidroxila no carbono anômero do glicídeo envolvido na ligação. Se esse grupo hidroxila do carbono anômero estiver na configuração α , a ligação é α . Se o grupo estiver na configuração β , a ligação é β . A lactose, por exemplo, é sintetizada pela formação de uma ligação glicosídica entre o carbono 1 de uma β -galactose e o carbono 4 da

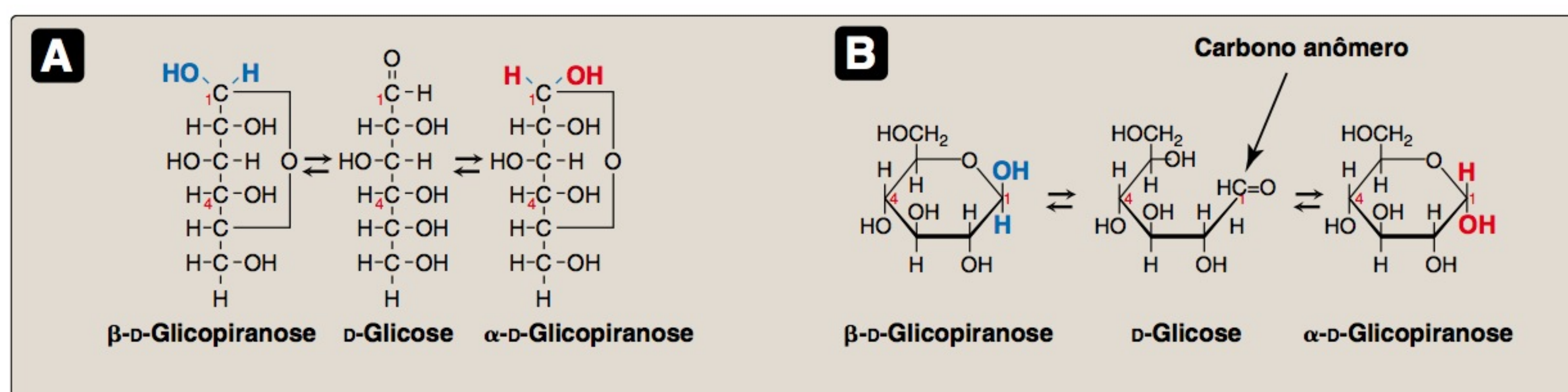


Figura 7.6

A. Interconversão (mutarrotação) das formas anômeras de glicose α e β , mostradas como fórmulas de projeção de Fischer modificadas. B. Interconversão mostrada pelas fórmulas de projeção de Haworth. O carbono 1 é o carbono anômero. (Nota: a glicose é um açúcar redutor.)

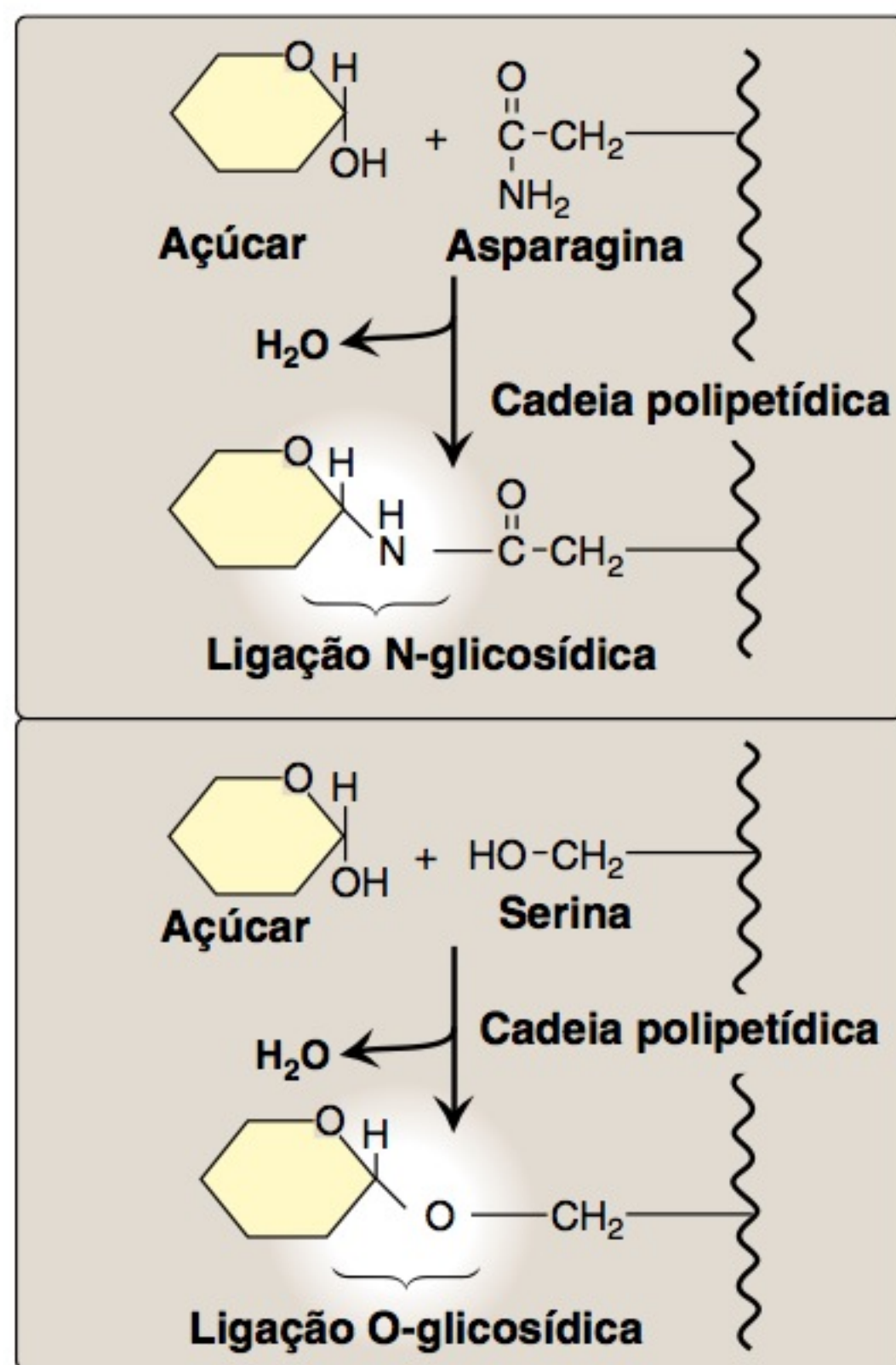


Figura 7.7

Glicosídeos: exemplos de ligações N-glicosídicas e O-glicosídicas.

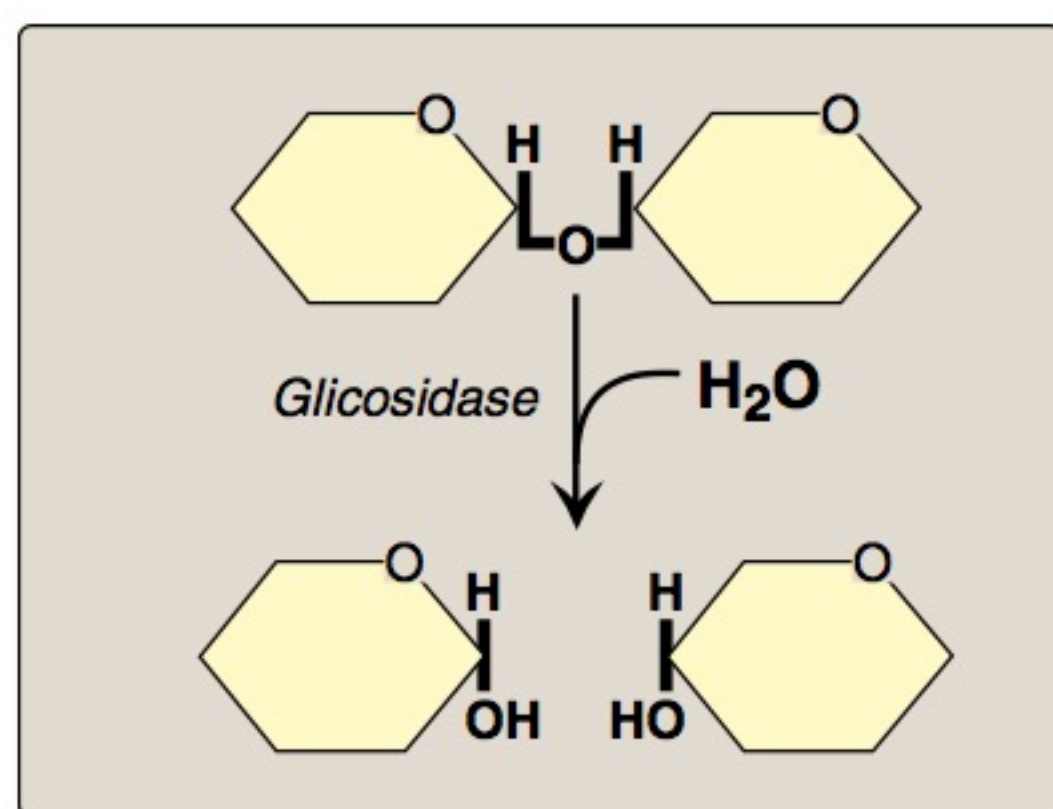


Figura 7.8

Hidrólise de uma ligação glicosídica.

glicose. A ligação é, dessa forma, uma ligação glicosídica $\beta(1\rightarrow4)$ (Figura 7.3). (Nota: como a extremidade anômérica do resíduo da glicose não está envolvida na ligação glicosídica, ela [e, dessa forma, a lactose] permanece sendo um glicídeo redutor.)

E. Carboidratos complexos

Os carboidratos podem unir-se por ligações glicosídicas a estruturas que não são carboidratos, como as bases púricas e pirimídicas (encontradas em ácidos nucleicos), anéis aromáticos (tais como as encontradas em esteroides e na bilirrubina), proteínas (encontradas em glicoproteínas e proteoglicanos) e lipídeos (em glicolipídeos).

1. **N- e O-Glicosídeos.** Se o grupo não carboidrato da molécula, ao qual o açúcar está ligado, for um grupo -NH_2 , a estrutura é um N-glicosídeo, e a ligação é chamada de N-glicosídica. Se o grupo for um grupo -OH , a estrutura é um O-glicosídeo, e a ligação é O-glicosídica (Figura 7.7). (Nota: todas as ligações glicosídicas glicídeo-glicídeo são do tipo O-glicosídicas.)

III. DIGESTÃO DOS CARBOIDRATOS

Os principais sítios de digestão dos carboidratos da dieta são a boca e o lúmen intestinal. Essa digestão é rápida e é catalisada por enzimas denominadas *glicosídeo-hidrolases* (*glicosidases*) que hidrolisam as ligações glicosídicas. Há poucos monossacarídeos em dietas de origem mista, animal e vegetal. Portanto, as enzimas necessárias para a degradação da maioria dos carboidratos da dieta são principalmente as *endoglicosidases*, que hidrolisam oligossacarídeos e polissacarídeos, e as *dissacaridases*, que hidrolisam tri e dissacarídeos em seus componentes redutores (Figura 7.8). *Glicosidases* em geral são específicas para a estrutura e para a configuração do resíduo glicosila a ser removido, bem como para o tipo de ligação a ser hidrolisada. Os produtos finais da digestão de carboidratos são os monossacarídeos glicose, galactose e frutose, os quais são absorvidos pelas células do intestino delgado.

A. A digestão dos carboidratos inicia na boca

Os principais polissacarídeos da dieta são de origem vegetal (amido, composto de amilose e amilopectina) e animal (glicogênio). Durante a mastigação, a α -amilase salivar atua brevemente sobre o amido e o glicogênio da dieta, de maneira aleatória, hidrolisando algumas ligações $\alpha(1\rightarrow4)$. (Nota: existem na natureza tanto *endoglicosidases* $\alpha(1\rightarrow4)$ quanto $\beta(1\rightarrow4)$, mas os humanos não produzem nem secretam esta última nos sucos digestivos. Dessa forma, eles são incapazes de digerir a celulose – um carboidrato de origem vegetal que contém ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ entre seus resíduos de glicose.) Tanto a amilopectina quanto o glicogênio são ramificados e, assim, também contêm ligações $\alpha(1\rightarrow6)$, que a α -amilase não pode hidrolisar. Por isso, os produtos da digestão resultantes da sua ação contêm uma mistura de oligossacarídeos não ramificados e ramificados, conhecidos como dextrinas (Figura 7.9). (Nota: dissacarídeos também estão presentes, pois são resistentes à *amilase*.) A digestão dos carboidratos cessa temporariamente no estômago, porque a elevada acidez inativa a α -amilase salivar.

B. A digestão subsequente dos carboidratos pelas enzimas pancreáticas ocorre no intestino delgado

Quando o conteúdo ácido do estômago atinge o intestino delgado, ele é neutralizado pelo bicarbonato secretado pelo pâncreas, e a α -amilase pancreática continua o processo de digestão do amido.

C. Digestão final dos carboidratos pelas enzimas sintetizadas pelas células mucosas intestinais

O processo final da digestão ocorre principalmente no epitélio mucoso do jejuno superior, e inclui a ação de várias *dissacaridases* (Figura 7.10). Por exemplo, a *isomaltase* rompe a ligação $\alpha(1\rightarrow6)$ da isomaltose, e a *maltase* hidrolisa a maltose e a maltotriose, ambas produzindo glicose; a *sacarase* hidrolisa a sacarose, produzindo glicose e frutose, e a *lactase* (β -galactosidase) hidrolisa a lactose, produzindo galactose e glicose. A trealose, um dissacarídeo de glicose $\alpha(1\rightarrow1)$ encontrado em cogumelos e outros fungos, é hidrolisado pela ação da trealase. Essas enzimas são secretadas pelo lado luminal da membrana em forma de escova das células da mucosa intestinal e permanecem associadas a essa membrana. (Nota: o substrato para a *isomaltase* é mais amplo do que o nome da enzima sugere, uma vez que essa enzima também hidrolisa grande parte da maltose.)

A *sacarase* e a *isomaltase* são atividades enzimáticas de uma única proteína dividida em duas subunidades funcionais que permanecem associadas na membrana celular formando o complexo *sacarase-isomaltase*. A *maltase* forma um complexo similar com a *exoglicosidase* (*glicoamilase*), que hidrolisa ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ nas dextrinas.

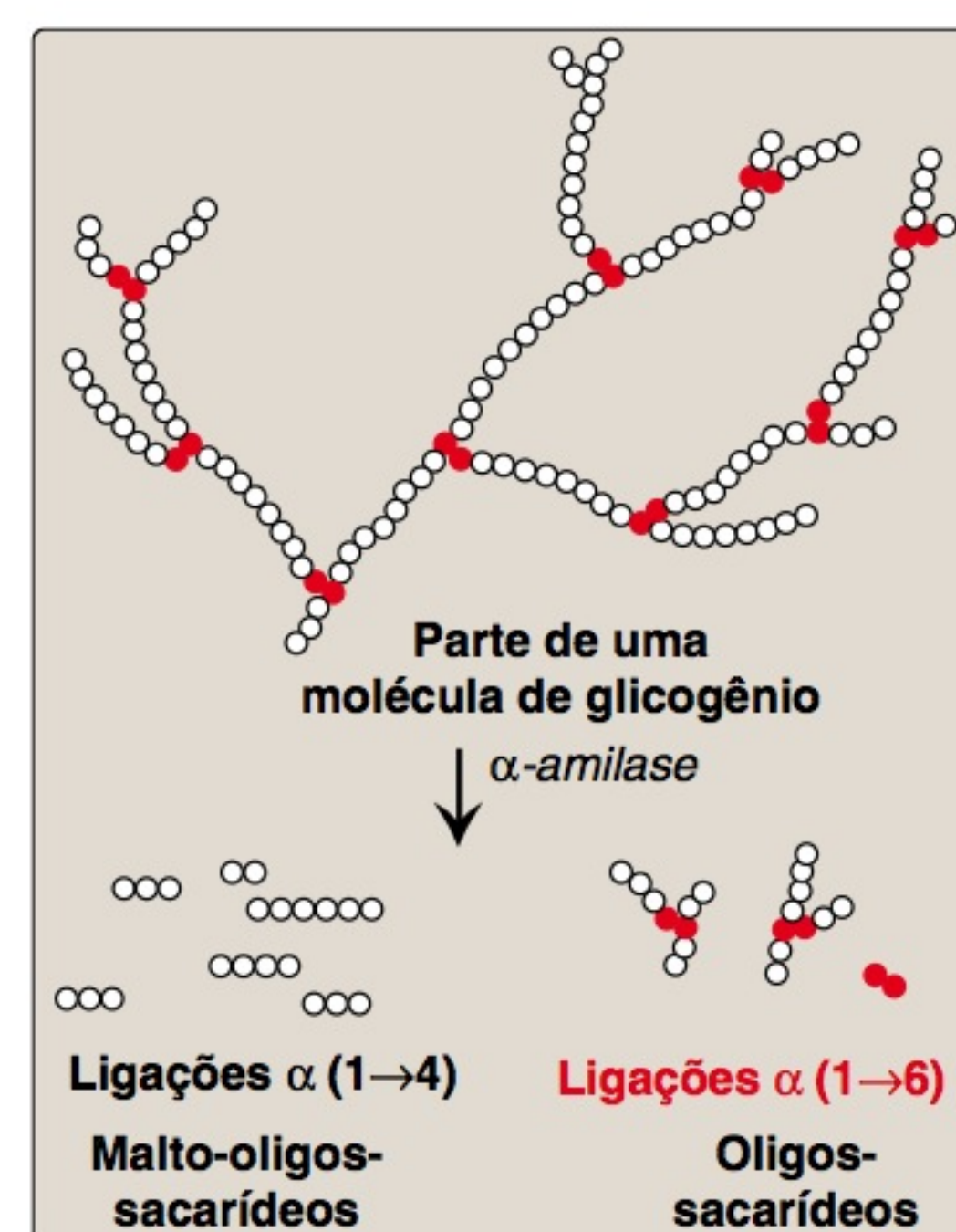


Figura 7.9

Degradação do glicogênio da dieta pelas α -amilases salivar ou pancreática.

D. Absorção dos monossacarídeos pelas células da mucosa do intestino

O duodeno e o jejuno superior absorvem a maior parte dos glicídeos da dieta. Entretanto, diferentes glicídeos são absorvidos por meio de diferentes mecanismos. Por exemplo, a galactose e a glicose são transportadas para o interior das células mucosas por um processo ativo, que requer energia e uma captação concomitante de íons sódio; a proteína transportadora é o cotransportador de glicose 1 dependente de sódio (SGLT-1). A absorção de frutose requer um transportador de monossacarídeo independente de sódio (GLUT-5). Todos os três monossacarídeos são transportados das células mucosas intestinais para a circulação porta por outro transportador, o GLUT-2 (veja a p. 97 para uma discussão sobre esses transportadores).

E. Degradação anormal de dissacarídeos

Todo o processo de digestão e absorção dos carboidratos é tão eficiente em indivíduos saudáveis que, normalmente, todo o carboidrato digerível da dieta já terá sido absorvido quando o material ingerido tiver alcançado o baixo jejuno. Entretanto, devido ao fato de que apenas os monossacarídeos são absorvidos, qualquer defeito na atividade de determinada *dissacaridase* da mucosa intestinal causa a passagem do carboidrato não digerido para o intestino grosso. Como consequência da presença desse material osmoticamente ativo, a água flui da mucosa para o intestino grosso, causando diarreia osmótica. Isso é reforçado pela fermentação bacteriana dos carboidratos remanescentes, produzindo compostos de dois ou três carbonos (também osmoticamente ativos), além de grande volume dos gases CO_2 e H_2 , causando cólicas abdominais, diarreia e flatulência.

1. **Deficiência de enzimas digestivas.** Deficiências hereditárias de *dissacaridases* específicas resultam em intolerância a dissa-

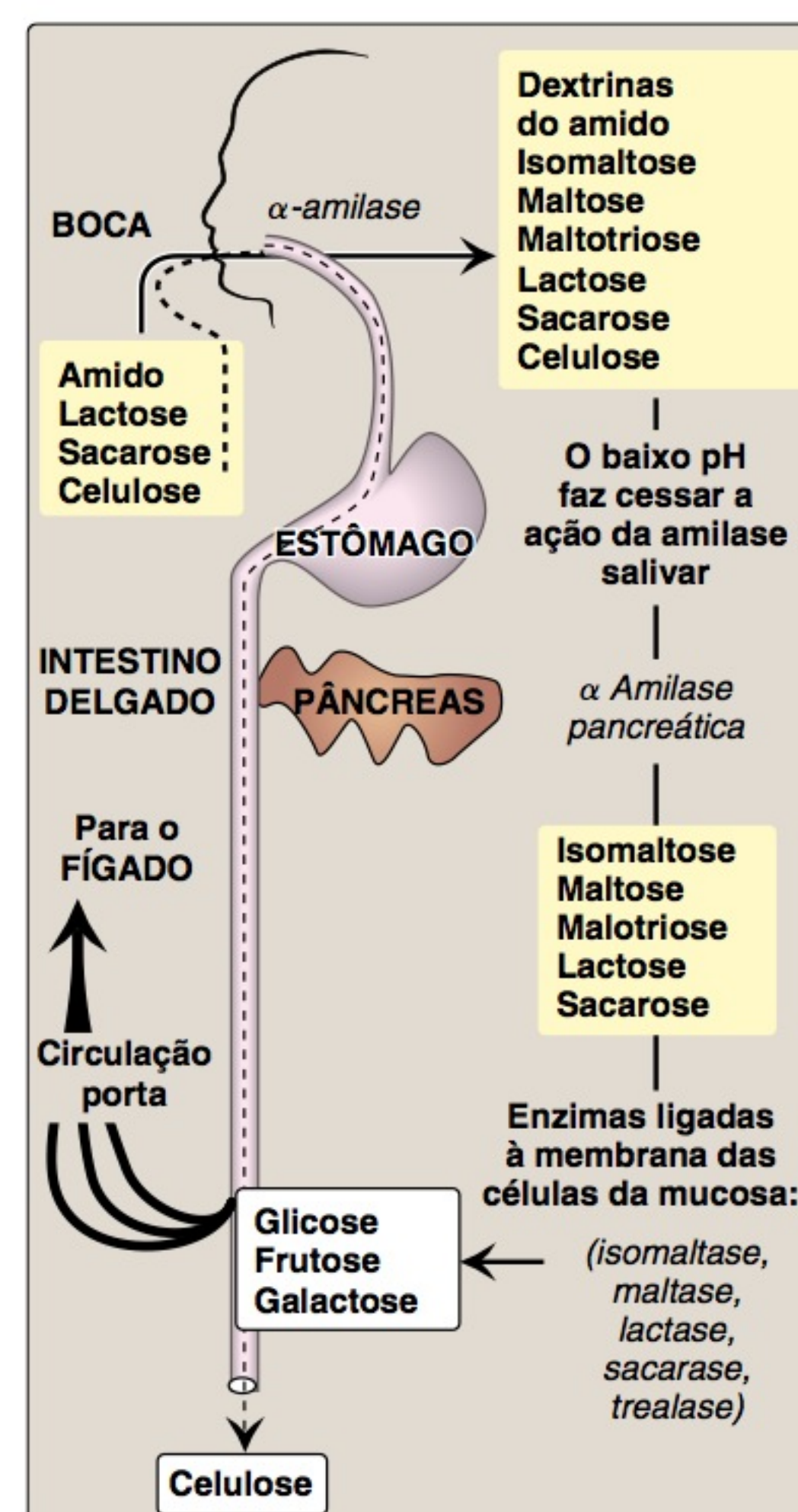


Figura 7.10

Digestão dos carboidratos. (Nota: a celulose não é digerida; entra no cólon e é excretada.)

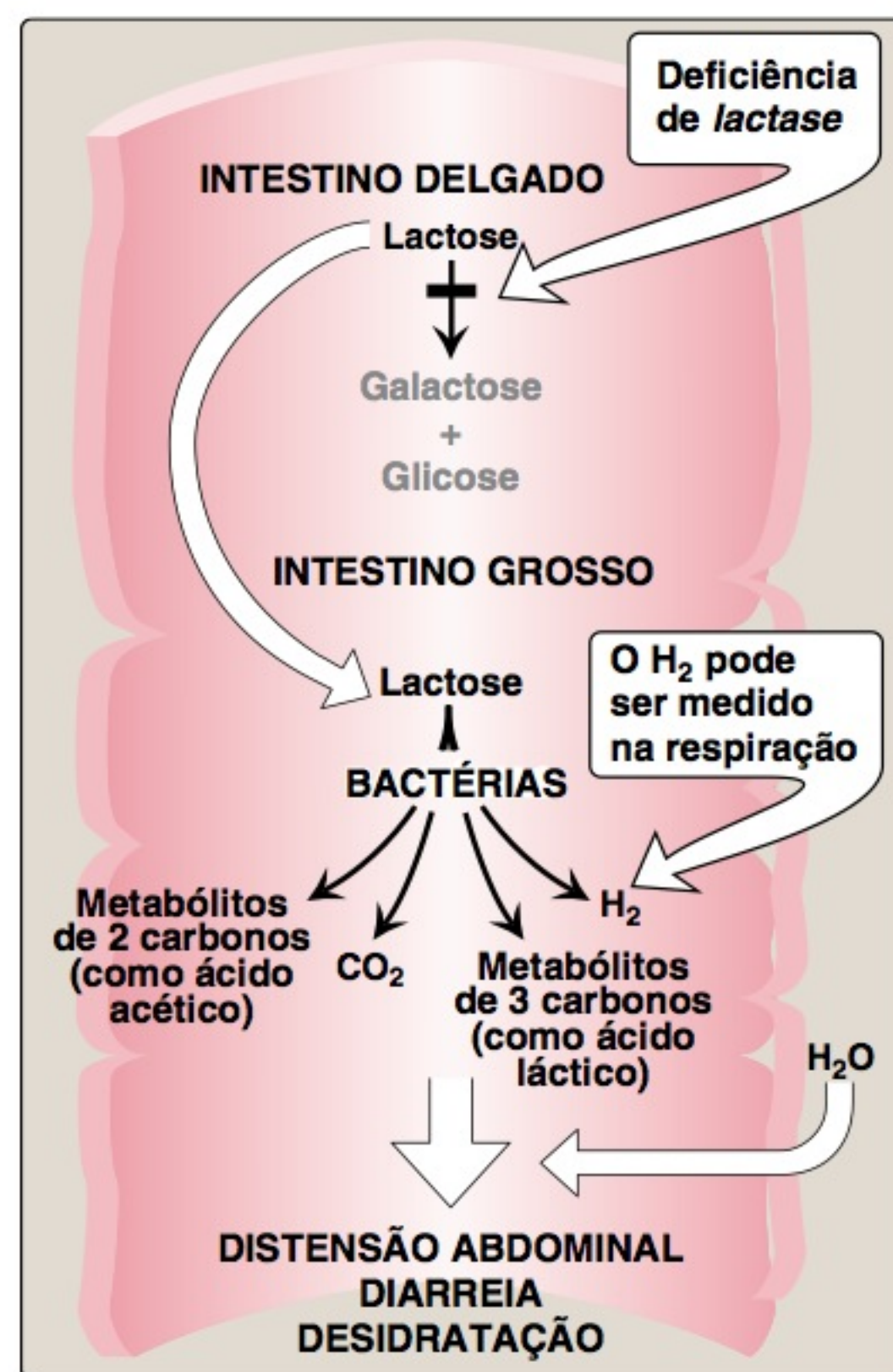


Figura 7.11

Metabolismo anormal da lactose.

carídeos. As alterações na degradação de dissacarídeos também podem ser causadas por uma variedade de doenças intestinais, má-nutrição ou ingestão de fármacos que danificam a mucosa do intestino delgado. Por exemplo, as enzimas da membrana em forma de escova são rapidamente perdidas em indivíduos normais com diarreia grave, causando uma deficiência enzimática adquirida e temporária. Assim, pacientes que sofrem ou estão se recuperando de tais doenças não podem beber ou comer quantidades significativas de produtos derivados do leite ou sacarose, pois isso iria piorar a diarreia.

2. **Intolerância à lactose.** Mais de 75% dos adultos na população mundial são intolerantes à lactose (Figura 7.11). Isso se manifesta particularmente em certas populações. Por exemplo, até 90% dos adultos com ascendência africana ou asiática são deficientes em *lactase* e, dessa forma, menos capazes de metabolizar lactose do que os indivíduos originários do norte da Europa. A perda da atividade da enzima *lactase* dependente da idade é resultado de uma diminuição na quantidade de enzima e não de uma modificação que torna a enzima inativa. Acredita-se que tal fato esteja relacionado a pequenas variações na sequência do DNA da região do cromossomo 2 que controla a expressão do gene para a *lactase*, também no cromossomo 2. O tratamento para esse distúrbio é reduzir o consumo de leite e ingerir iogurtes e queijos, além de comer vegetais verdes como brócolis, para assegurar a ingestão adequada de cálcio; usar produtos tratados com *lactase*; ou ingerir a *lactase* em forma de pílulas antes das refeições. (Nota: uma vez que a perda da lactase é a norma para grande parte da população adulta no mundo, o uso do termo “hipolactasia adulta” para a intolerância à lactose é cada vez mais utilizado.)
3. **Deficiência do complexo isomaltase-sacarase.** Essa deficiência enzimática resulta na intolerância à sacarose ingerida. Esse distúrbio é encontrado em cerca de 10% dos esquimós da Groenlândia e do Canadá, enquanto 2% dos norte-americanos são heterozigotos para essa deficiência. O tratamento inclui remoção da sacarose da dieta e terapia de reposição enzimática.
4. **Diagnóstico.** A identificação de determinada deficiência enzimática pode ser realizada fazendo-se testes de tolerância oral ao dissacarídeo em questão. A medição de gás hidrogênio no hálito é um teste confiável para determinar a quantidade de carboidrato ingerido e não absorvido pelo organismo, mas metabolizado pela flora intestinal (Figura 7.11).

IV. RESUMO DO CAPÍTULO

Os **monossacarídeos** (glicídeos simples, Figura 7.12) que contêm grupo aldeído são denominados **aldoses**, e aqueles com grupo cetona são chamados **cetoses**. Os **dissacarídeos**, os **oligossacarídeos** e os **polissacarídeos** consistem em monossacarídeos unidos por **ligações glicosídicas**. Compostos com a mesma fórmula química são chamados **isômeros**. Se dois monossacarídeos isômeros diferem na configu-

razão em torno de apenas um determinado átomo de carbono (com exceção do carbono da carbonila), eles são definidos como **epímeros** um do outro. Se dois glicídeos são imagens especulares um do outro (**enantiômeros**), são designados como **D-** e **L-açúcares**. Quando um glicídeo cicliza, é criado um **carbono anômero** a partir do grupo aldeído de uma aldose ou do grupo cetona de uma cetose. Esse carbono pode ter duas configurações, α ou β . Se o grupo aldeído no glicídeo acíclico ficar oxidado enquanto um agente cromogênico torna-se reduzido, aquele glicídeo é um **glicídeo redutor**. Um glicídeo com seu carbono anômero ligado a outra estrutura é chamado de **resíduo glicosila**. Glicídeos podem ligar-se a grupos -NH_2 ou -OH , produzindo **N-** ou **O-glicosídeos**. A α -**amilase salivar** atua sobre os **polissacarídeos da dieta** (glicogênio, amilose, amilopectina), produzindo **oligossacarídeos**. A α -**amilase pancreática** continua o processo de digestão dos polissacarídeos. O processo final da digestão ocorre no **epitélio mucoso do intestino delgado**. Várias **dissacaridases** (p. ex., **lactase** [β -galactosidase], **sacarase**, **maltase** e **isomaltase**) produzem monossacarídeos (glicose, galactose e frutose). Essas enzimas são secretadas pelas **células da mucosa intestinal** e permanecem associadas com o lado luminal da **membrana em forma de escova**. A absorção dos monossacarídeos requer transportadores específicos. Se a degradação dos carboidratos for deficiente (como resultado de hereditariedade, doença intestinal, má-nutrição ou ingestão de fármacos que danificam a mucosa do intestino delgado), os carboidratos não digeridos irão passar para o intestino grosso, onde podem causar **diarreia osmótica**. A fermentação bacteriana desses compostos produz grande volume dos gases CO_2 e H_2 , causando cólicas abdominais, diarreia e flatulência. A **intolerância à lactose**, causada pela ausência da **lactase**, é, sem dúvida, a mais comum dessas deficiências.

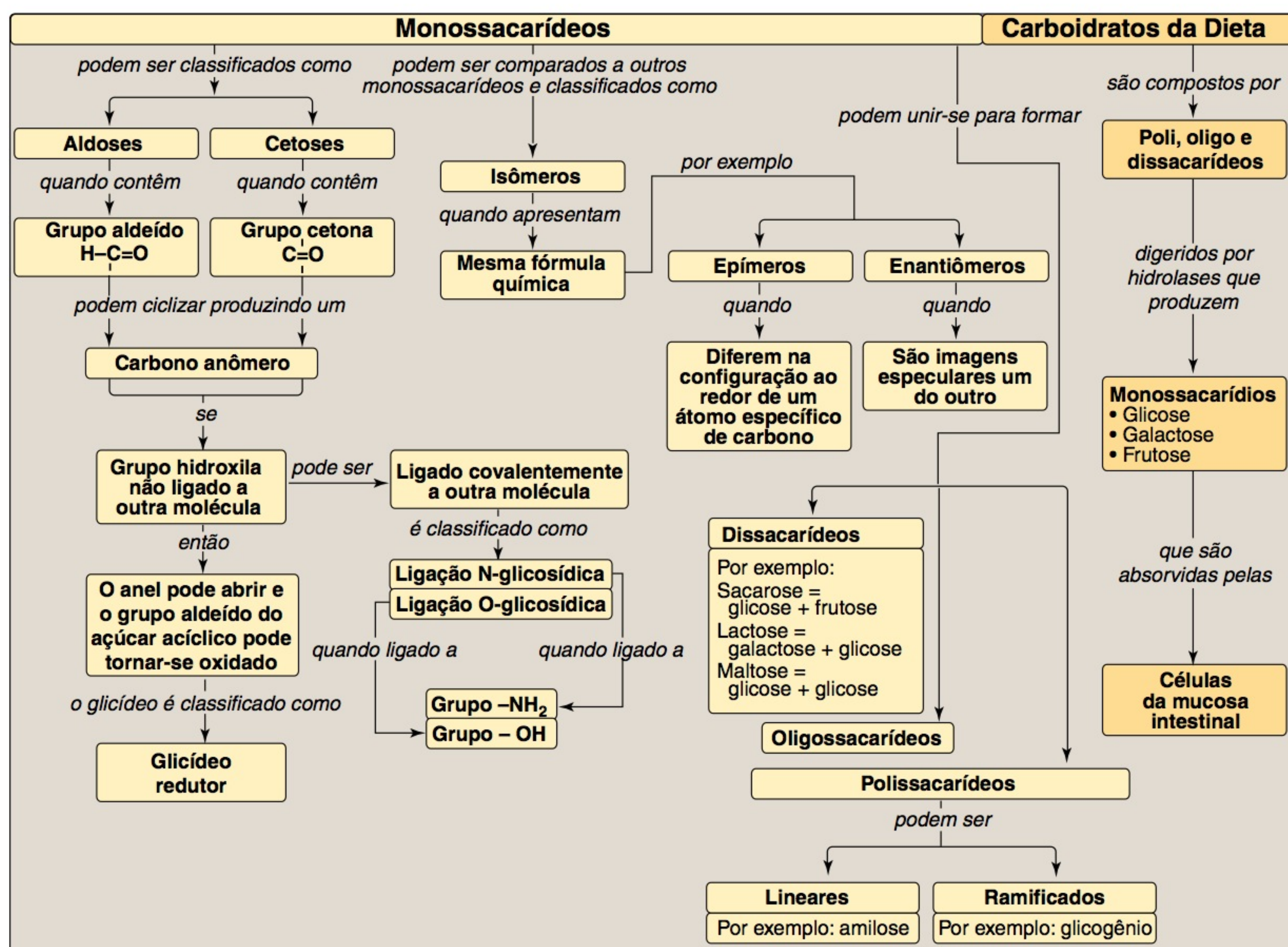


Figura 7.12

Mapa de conceitos-chave para a estrutura dos monossacarídeos.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

7.1 Qual das afirmativas abaixo melhor descreve a glicose?

- A. É uma cetose e, em solução, está geralmente na forma de anel de furanose.
- B. É epímero da galactose em C-4.
- C. Nos sistemas biológicos, é utilizada somente na forma isomérica L.
- D. É produzida a partir do amido da dieta pela ação da α -amilase.
- E. Homopolissacarídeos de glicose, formados pela ação de glicosiltransferases, são sempre moléculas ramificadas contendo apenas ligações β -glicosídicas.

Resposta correta = B. A glicose e a galactose diferem somente na configuração ao redor do carbono 4 e, assim sendo, são epímeros em C-4, podendo sofrer interconversão pela ação de uma epimerase. A glicose é uma aldose que, em solução, está tipicamente na forma de um anel piranose; a frutose, por sua vez, é uma cetose com anel furanosídico. A forma isomérica da série D dos carboidratos é a tipicamente encontrada nos sistemas biológicos, ao contrário dos aminoácidos. A amilase salivar não produz monossacarídeos. Homopolissacarídeos de glicose incluem o glicogênio ramificado, que possui ligações α -glicosídicas, bem como a celulose não ramificada que possui ligações β .

7.2 Um jovem negro foi ao consultório do seu médico queixando-se de “inchaço” e diarreia. O paciente apresentava olheiras profundas, e o médico notou sinais de desidratação. A temperatura do paciente estava normal. Ele explicou que o episódio ocorreu após uma festa de aniversário, na qual ele participou de um concurso de ingestão de sorvete. O paciente relatou episódios anteriores de natureza similar após a ingestão de quantidades significativas de derivados do leite. Esse quadro clínico é mais provavelmente devido a uma deficiência de:

- A. α -amilase salivar.
- B. Isomaltase.
- C. α -amilase pancreática.
- D. Sacarase.
- E. Lactase.

Resposta correta = E. Os sintomas físicos sugerem deficiência em uma enzima responsável pela degradação de carboidratos. Os sintomas observados após a ingestão de derivados do leite sugerem que o paciente apresenta deficiência de lactase.

7.3 Um exame de rotina da urina de um paciente pediátrico assintomático apresentou reação positiva com o Clinitest (método de detecção de açúcares redutores pela redução do cobre), mas foi negativo para o teste da glicose oxidase. Qual dos açúcares abaixo apresenta menor probabilidade de estar presente (supondo que um único sacarídeo esteja elevado)?

- A. Lactose
- B. Frutose
- C. Sacarose
- D. Xilulose
- E. Galactose

Resposta correta = C. O Clinitest é um teste não específico que produz alteração na cor se a urina for positiva para substâncias redutoras, incluindo açúcares redutores (glicose, frutose, galactose, xilulose, lactose), aminoácidos, ácido ascórbico e certos fármacos e metabólitos de fármacos. Como a sacarose não é um açúcar redutor, não é detectada pelo Clinitest. O método da glicose oxidase não detectará níveis aumentados de galactose ou outros açúcares na urina. Por essa razão, é importante que um método utilizando a redução de cobre seja utilizado como teste de triagem. Nesses casos, quando o método do cobre é positivo e o método da glicose oxidase é negativo, exclui-se a possibilidade de glicosúria.

7.4 A administração de ascarbose e miglitol, inibidores da enzima α -glicosidase, concomitantemente às refeições, é utilizada como tratamento para diabetes. Explique quais são os efeitos desses fármacos em relação à digestão da lactose.

Inibidores de α -glicosidase diminuem a produção de glicose a partir da ingestão de carboidratos da dieta, reduzindo dessa forma o aumento da glicose plasmática pós-prandial e facilitando o controle da glicose sanguínea no diabetes. Esses fármacos não possuem efeitos sobre a digestão de lactose porque o dissacarídeo lactose contém ligações glicosídicas β e não α .

Glicólise

8

I. INTRODUÇÃO AO METABOLISMO

No Capítulo 5, as reações enzimáticas foram analisadas individualmente, na tentativa de explicar os mecanismos da catálise. Nas células, entretanto, essas reações raramente ocorrem de forma isolada; em geral, são organizadas em sequências de múltiplos passos, denominadas vias, como a glicólise (Figura 8.1). Em uma via, o produto de uma reação serve como substrato para a reação subsequente. Diferentes vias também podem formar intersecções, estabelecendo uma rede integrada de reações químicas com propósitos definidos. Essas redes de reações são coletivamente denominadas metabolismo, que é a soma de todas as mudanças químicas que ocorrem nas células, nos tecidos ou nos organismos. As vias, em sua maior parte, podem ser classificadas como catabólicas (de degradação) ou anabólicas (de síntese). As reações catabólicas quebram moléculas complexas, como proteínas, polissacarídeos ou lipídeos, produzindo uma pequena variedade de moléculas mais simples, como CO_2 , NH_3 (amônia) e água. As vias anabólicas formam produtos finais complexos a partir de precursores simples, como a síntese de um polissacarídeo, o glicogênio, a partir de glicose. (Nota: as vias que regeneram um de seus componentes são denominadas ciclos.) Nos capítulos que seguem, serão tratadas as vias metabólicas centrais envolvidas na síntese e na degradação de carboidratos, lipídeos e aminoácidos.

A. Mapa metabólico

Ao investigarmos o metabolismo, será conveniente examinarmos suas vias componentes. Cada via é composta de sequências multienzimáticas, e cada enzima, por sua vez, pode apresentar importantes características catalíticas ou regulatórias. Para dar ao leitor uma “visão panorâmica”, um mapa metabólico contendo as vias centrais mais importantes para o metabolismo energético é mostrado na Figura 8.2. Esse mapa é útil para traçarmos conexões entre as vias, visualizando o “movimento”, com propósitos definidos, de metabólitos intermediários, e para imaginarmos o efeito do bloqueio de uma via sobre o fluxo de metabólitos, situação que pode ocorrer, por exemplo, pelo efeito de um fármaco ou da deficiência herdada na atividade de uma enzima. Ao longo das próximas três unidades deste livro, cada via em discussão será caracterizada repetidamente como parte do mapa metabólico principal, mostrado na Figura 8.2.

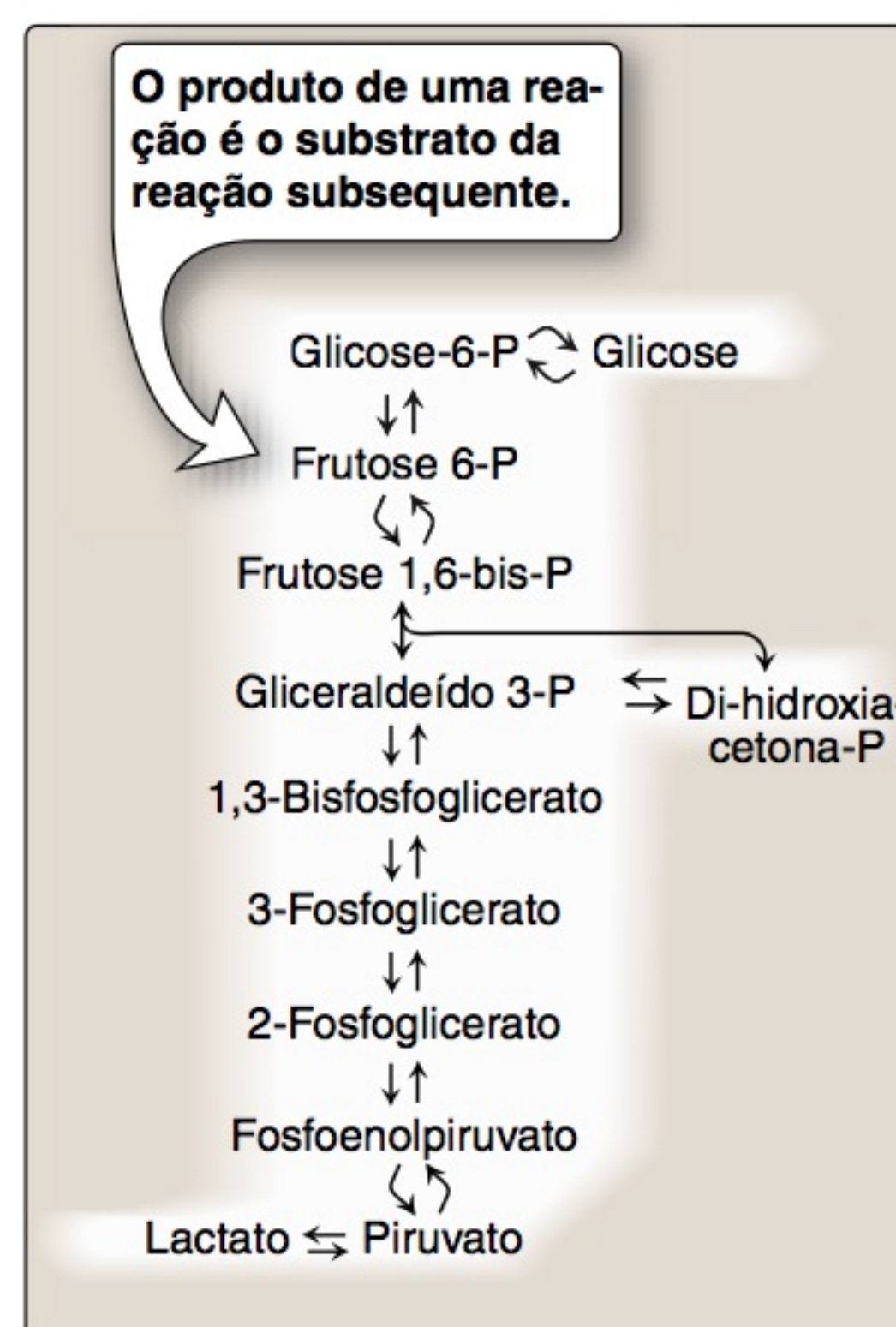
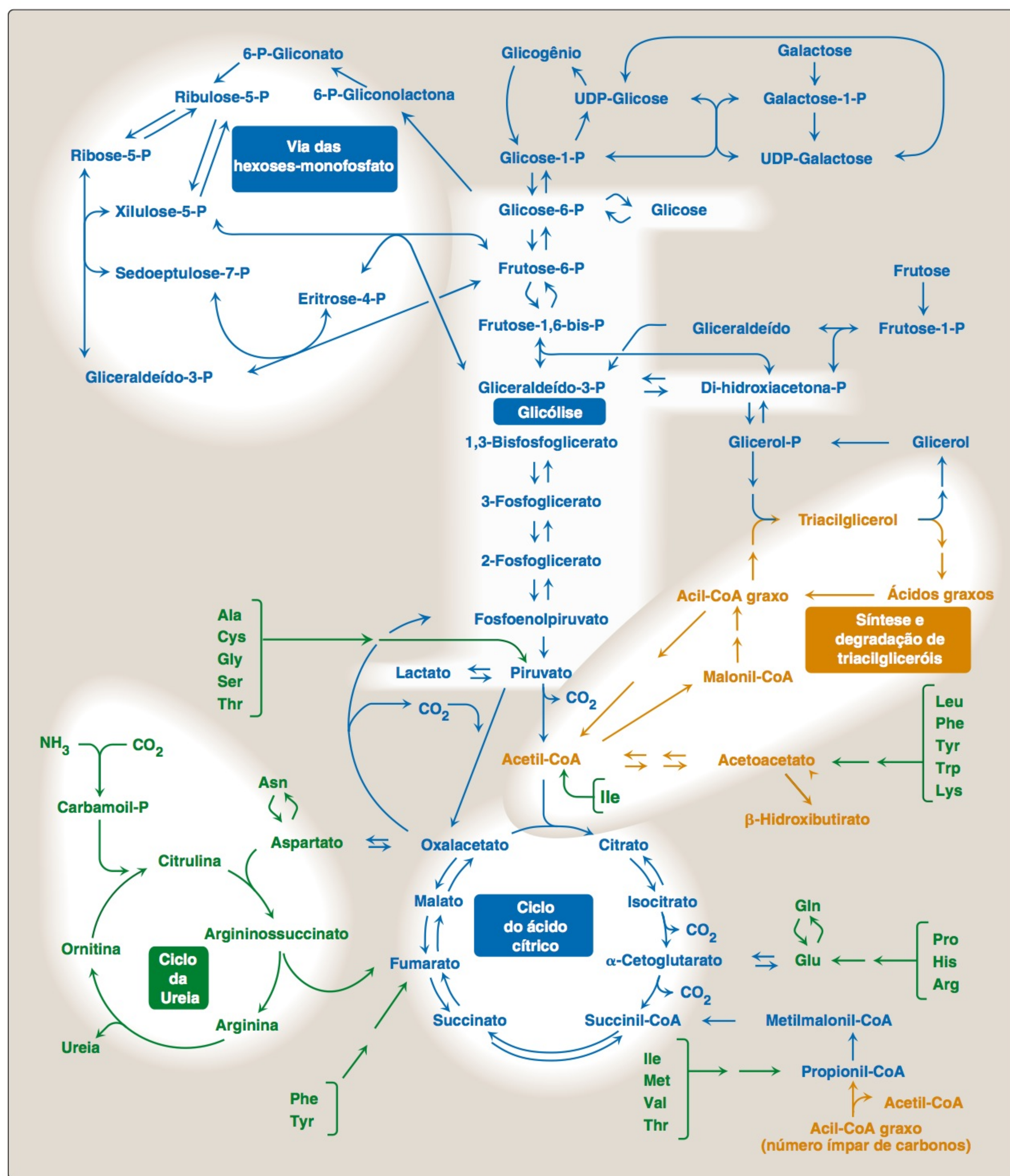


Figura 8.1

Glicólise, um exemplo de via metabólica.

**Figura 8.2**

Reações importantes do metabolismo intermediário. Diversas vias importantes, que serão discutidas nos capítulos seguintes, estão destacadas. Setas de reações em curva (↻) indicam reações em um sentido e no sentido inverso, catalisadas por enzimas diferentes. As setas retas (↔) indicam reações em um sentido e no sentido inverso, catalisadas pela mesma enzima. Chave: texto em azul = intermediários do metabolismo dos carboidratos; texto em marrom = intermediários do metabolismo dos lipídeos; texto em verde = intermediários do metabolismo das proteínas.

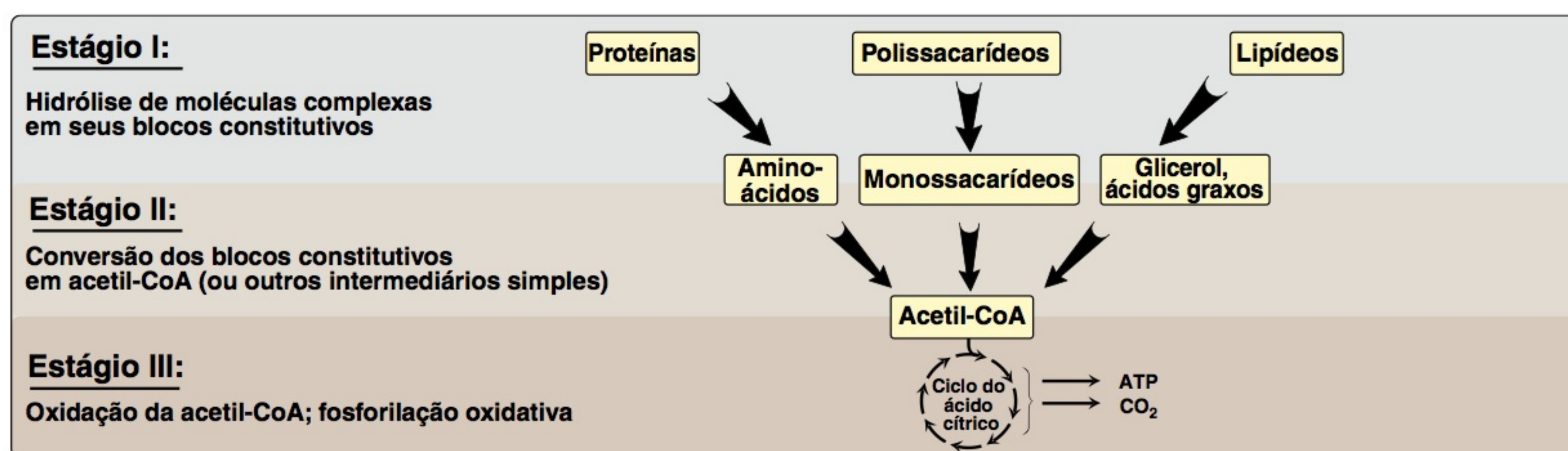


Figura 8.3

Os três estágios do catabolismo.

B. Vias catabólicas

As reações catabólicas têm o propósito de capturar a energia química, obtida da degradação de moléculas combustíveis ricas em energia, formando trifosfato de adenosina (ATP). O catabolismo também permite que moléculas da dieta (ou moléculas nutrientes armazenadas nas células) sejam convertidas em blocos constitutivos necessários para a síntese de moléculas complexas. A energia gerada pela degradação de moléculas complexas ocorre em três estágios, como mostrado na Figura 8.3. (Nota: as vias catabólicas são tipicamente oxidativas e necessitam coenzimas como o NAD^+ .)

- Hidrólise de moléculas complexas.** No primeiro estágio, moléculas complexas são quebradas em seus blocos constitutivos. Por exemplo, proteínas são degradadas em aminoácidos, polissacarídeos em monossacarídeos e triacilgliceróis em ácidos graxos livres e glicerol.
- Conversão dos blocos constitutivos em intermediários mais simples.** No segundo estágio, esses blocos constitutivos diversos são posteriormente degradados em acetil-coenzima A (CoA) e em uma pequena variedade de moléculas simples. Parte da energia é capturada como ATP, porém essa quantidade é pequena se comparada com a energia produzida durante o terceiro estágio do catabolismo.
- Oxidação da acetil-CoA.** O ciclo do ácido cítrico ou ciclo dos ácidos tricarbóxicos (CAT) (veja a p. 109) é a via final comum da oxidação de moléculas combustíveis, que produzem acetil-CoA. A oxidação de acetil-CoA gera grandes quantidades de ATP via fosforilação oxidativa, à medida que os elétrons fluem do NADH e do FADH_2 para o oxigênio (veja a p. 73).

C. Vias anabólicas

As reações anabólicas reúnem moléculas pequenas, como aminoácidos, para formar moléculas complexas, como as proteínas (Figura 8.4). As reações anabólicas são endergônicas, isto é, necessitam de energia, via de regra, fornecida pela quebra de ATP, dando difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico (P_i). Com frequência, as reações anabólicas envolvem reduções químicas em que o poder redutor é, geralmente, fornecido pelo doador de elétrons NADPH (veja a p. 147). Observe que o catabolismo é um processo convergente, ou seja, uma ampla variedade de moléculas é transformada em poucos produtos finais. Em contraste, o anabolismo é um processo divergente, no qual poucos precursores biossintéticos formam uma ampla variedade de produtos poliméricos ou complexos.

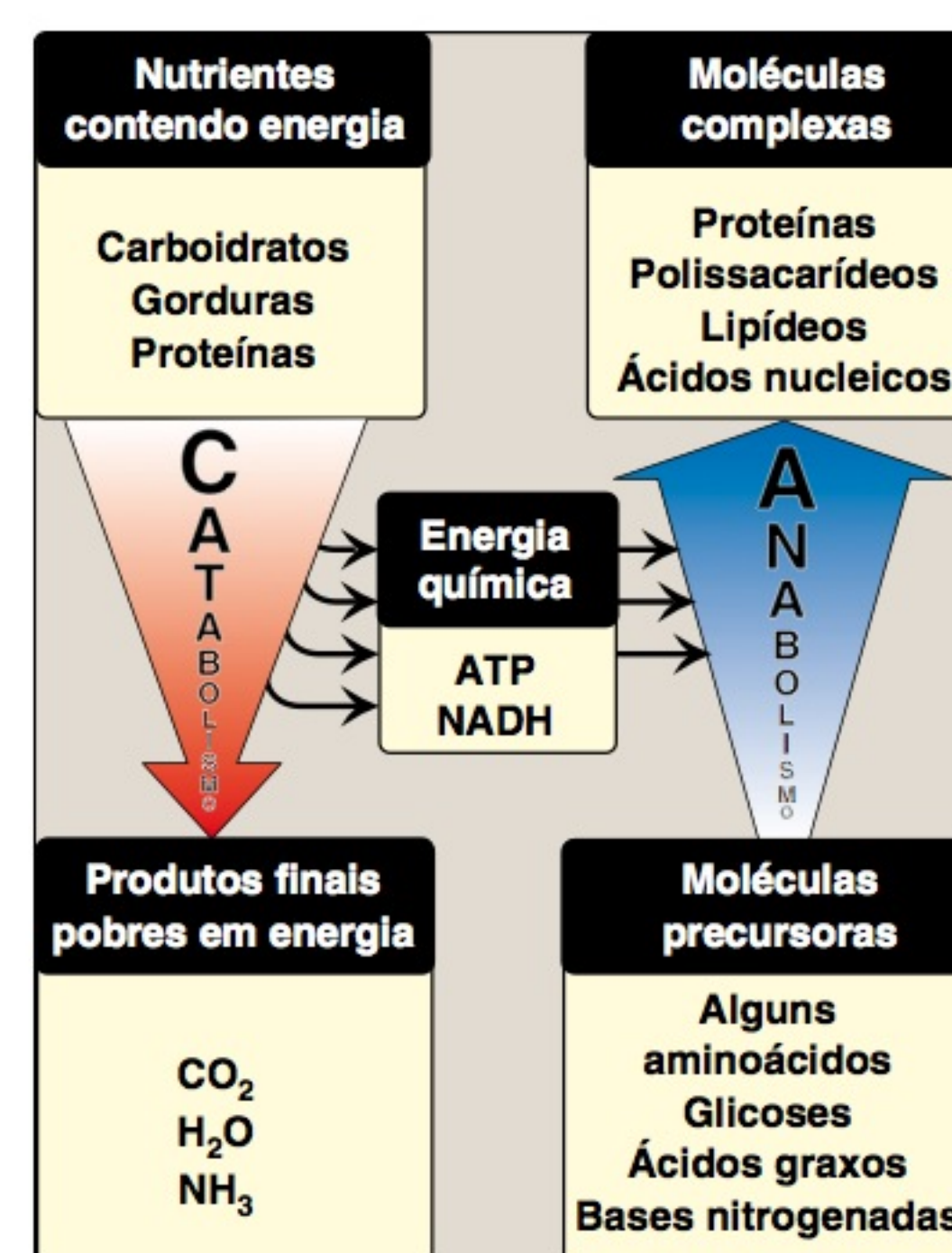
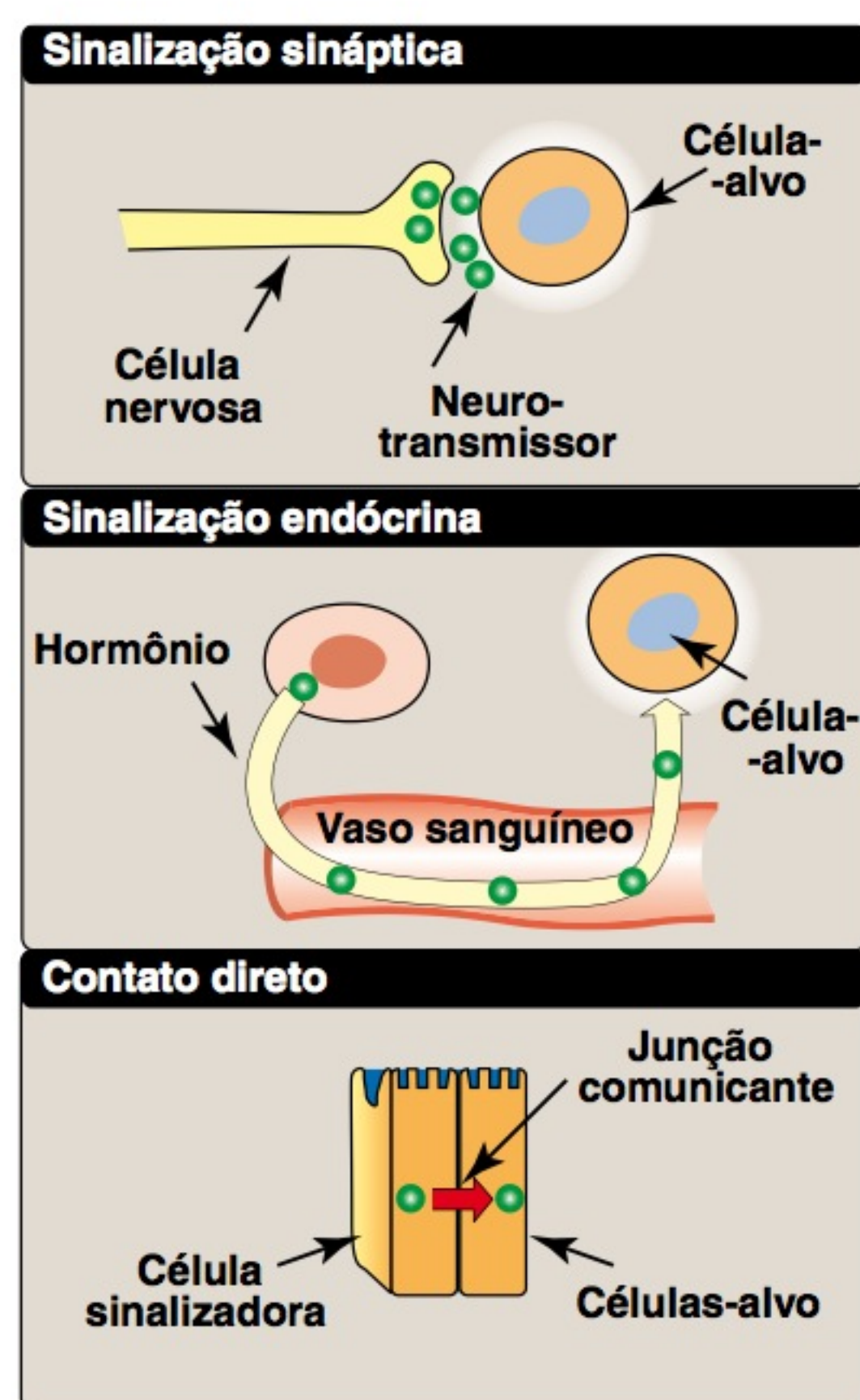
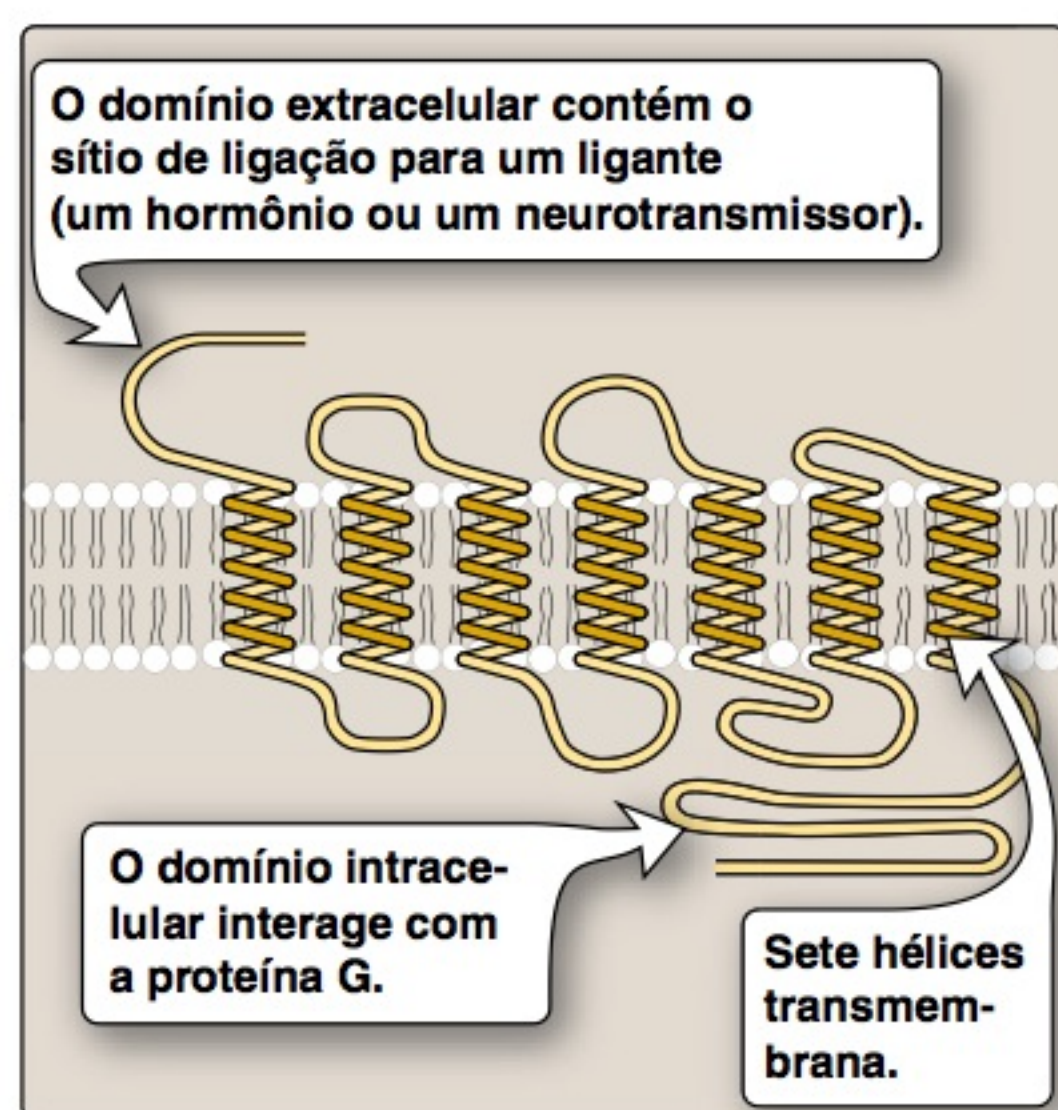


Figura 8.4

Comparação entre vias catabólicas e anabólicas.

**Figura 8.5**

Alguns mecanismos comumente usados para a transmissão de sinais reguladores entre células.

**Figura 8.6**

Estrutura de um típico receptor acoplado à proteína G na membrana plasmática.

II. REGULAÇÃO DO METABOLISMO

As vias metabólicas devem ser coordenadas, de modo que a produção de energia e a síntese de produtos finais estejam de acordo com as necessidades da célula. Além disso, as células individuais não funcionam isoladamente, mas são parte de uma comunidade de tecidos que interagem. Desse modo, um sofisticado sistema de comunicação evoluiu para coordenar as funções do organismo. Os sinais regulatórios que informam determinada célula sobre o estado metabólico do organismo como um todo incluem hormônios, neurotransmissores e a disponibilidade de nutrientes. Esses, por sua vez, influenciam os sinais gerados dentro da célula (Figura 8.5).

A. Sinais de dentro da célula (intracelulares)

A velocidade de uma via metabólica pode responder a sinais reguladores que surgem no interior da célula. Por exemplo, a velocidade de uma via pode ser influenciada pela disponibilidade de substratos, pela inibição ocasionada pelos produtos ou por alterações nos níveis de ativadores ou inibidores alostéricos. Esses sinais intracelulares normalmente determinam respostas rápidas e são importantes para a regulação do metabolismo a cada momento.

B. Comunicação entre as células (intercelular)

A capacidade de responder a sinais extracelulares é essencial para a sobrevivência e para o desenvolvimento de todos os organismos. A sinalização entre as células fornece uma integração mais ampla do metabolismo e normalmente resulta em uma resposta mais lenta, se comparada àquela observada com sinais originados dentro da célula. A comunicação entre células pode ser mediada pelo contato entre suas superfícies e, em alguns tecidos, pela formação de junções comunicantes, permitindo a comunicação direta entre os citoplasmas de células adjacentes. Para o metabolismo energético, no entanto, a via mais importante de comunicação é a sinalização química entre as células, mediada por hormônios trazidos pela corrente sanguínea ou por neurotransmissores.

C. Sistemas de segundos mensageiros

Os hormônios e os neurotransmissores podem ser imaginados como sinais, e seus receptores como detectores de sinal. Cada componente serve como um elo na comunicação entre os eventos extracelulares e as alterações químicas dentro da célula. Muitos receptores sinalizam o reconhecimento de um ligante acoplado por meio do desencadeamento de uma série de reações que, por fim, resulta em uma resposta intracelular específica. Moléculas denominadas “segundos mensageiros” – assim designadas por atuarem entre o mensageiro original (o neurotransmissor ou o hormônio) e o efeito final dentro da célula – são parte de uma cascata de eventos que traduz a ligação do hormônio ou neurotransmissor em resposta celular. Dois dos mais amplamente reconhecidos sistemas de segundos mensageiros são o sistema cálcio/fosfatidilinositol (veja a p. 205) e o sistema da *adenilato-ciclase*, que é particularmente importante para a regulação das vias do metabolismo intermediário.

D. Adenilato-ciclase

O reconhecimento de um sinal químico por alguns receptores de membrana, como os receptores adrenérgicos dos tipos β e α_2 , irá disparar um aumento ou uma redução na atividade da *adenilato-ciclase*. Essa é uma enzima ligada à membrana que converte ATP em 3',5'-monofosfato de adenosina (também denominado AMP cíclico ou AMPc). Esses sinais químicos são, com frequência, hormônios ou neurotransmissores que se ligam especificamente a um determinado tipo de receptor de membrana. Desse

modo, tecidos que respondem a mais de um sinal químico devem apresentar diversos receptores diferentes, cada um dos quais podendo estar ligado à *adenilato-ciclase*. Esses receptores caracterizam-se por apresentar uma região extracelular, onde se acoplam o ligante, sete hélices transmembrana e um domínio intracelular que interage com proteínas G (Figura 8.6), e são conhecidos como receptores acoplados a proteínas G (RAPG).

1. **Proteínas reguladoras dependentes de GTP.** O efeito do RAPG ativado e ocupado pelo ligante sobre a formação do segundo mensageiro não é direto, mas mediado por proteínas triméricas (subunidades α , β e γ) especializadas, que se localizam na membrana celular. Essas proteínas, denominadas proteínas G por ligarem nucleotídeos da guanosina (GTP e GDP), formam um elo da cadeia de comunicação entre o receptor e a *adenilato-ciclase*. Na forma inativa da proteína G, a subunidade α liga-se ao GDP (Figura 8.7). A união do ligante ao receptor causa neste uma alteração conformacional, disparando a troca desse GDP por GTP. A forma da subunidade α ligada ao GTP dissocia-se então das subunidades $\beta\gamma$, e move-se do receptor para a *adenilato-ciclase*, que é então ativada. Muitas moléculas de proteína G_α ativa são formadas por um receptor ativado. (Nota: a capacidade de um hormônio ou neurotransmissor de estimular ou inibir a *adenilato-ciclase* depende do tipo de proteína G_α ligada ao receptor. Uma família de proteínas G, designadas G_s , é específica para a estimulação da *adenilato-ciclase*; outra família de proteínas G, designadas G_i , causa inibição da enzima [não mostrada na Figura 8.7].) As ações do complexo proteína G_α -GTP são de curta duração, pois a proteína G_α apresenta atividade *GTPásica* inerente, resultando na hidrólise rápida do GTP a GDP. Isso causa a inativação da proteína G_α , sua dissociação da *adenilato-ciclase* e reassociação com o dímero $\beta\gamma$.

Certas toxinas, como as produzidas pelo *Vibrio cholerae* (cólera) e pela *Bordetella pertussis* (coqueluche), causam ativação inapropriada da *adenilato-ciclase*, por meio de modificação covalente (ADP-ribosilação) de diferentes proteínas G. No caso do cólera, a atividade de *GTPase* da G_{α_s} é inibida. No caso da coqueluche, G_{α_i} é inativada.

2. **Proteína-cinases.** O próximo elo no sistema de segundo mensageiro do AMPc é a ativação, pelo AMPc, de uma família de enzimas denominadas proteína-cinases dependentes de AMPc, por exemplo, a *proteína-cinase A* (Figura 8.8). O AMPc ativa a *proteína-cinase A*, ligando-se às suas duas subunidades regulatórias, determinando a liberação das subunidades catalíticas ativas. As subunidades ativas catalisam a transferência de fosfato do ATP para resíduos específicos de serina ou treonina em proteínas substratos dessa enzima. As proteínas fosforiladas podem atuar diretamente sobre canais iônicos da célula ou, sendo enzimas, podem tornar-se ativadas ou inibidas. A *proteína-cinase A* também pode fosforilar proteínas específicas, que se ligam a regiões promotoras no DNA, determinando alterações na expressão de determinados genes. (Nota: há diversos tipos de *proteína-cinases* não dependentes do AMPc, como, por exemplo, a *proteína-cinase C*, descrita na p. 205.)
3. **Desfosforilação de proteínas.** Os grupos fosfato adicionados às proteínas pelas *proteína-cinases* são removidos pelas *proteína-fosfatases* – enzimas que clivam hidroliticamente ésteres de fosfato

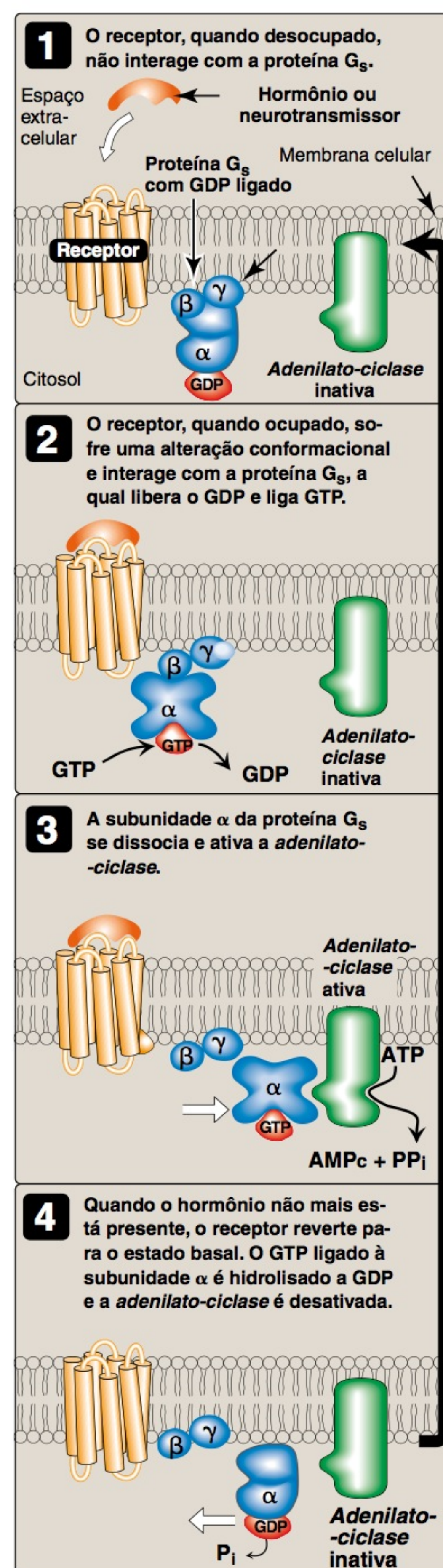


Figura 8.7

O reconhecimento de sinais químicos por certos receptores de membrana dispara um aumento (ou, menos frequentemente, um decréscimo) na atividade da adenilato-ciclase.

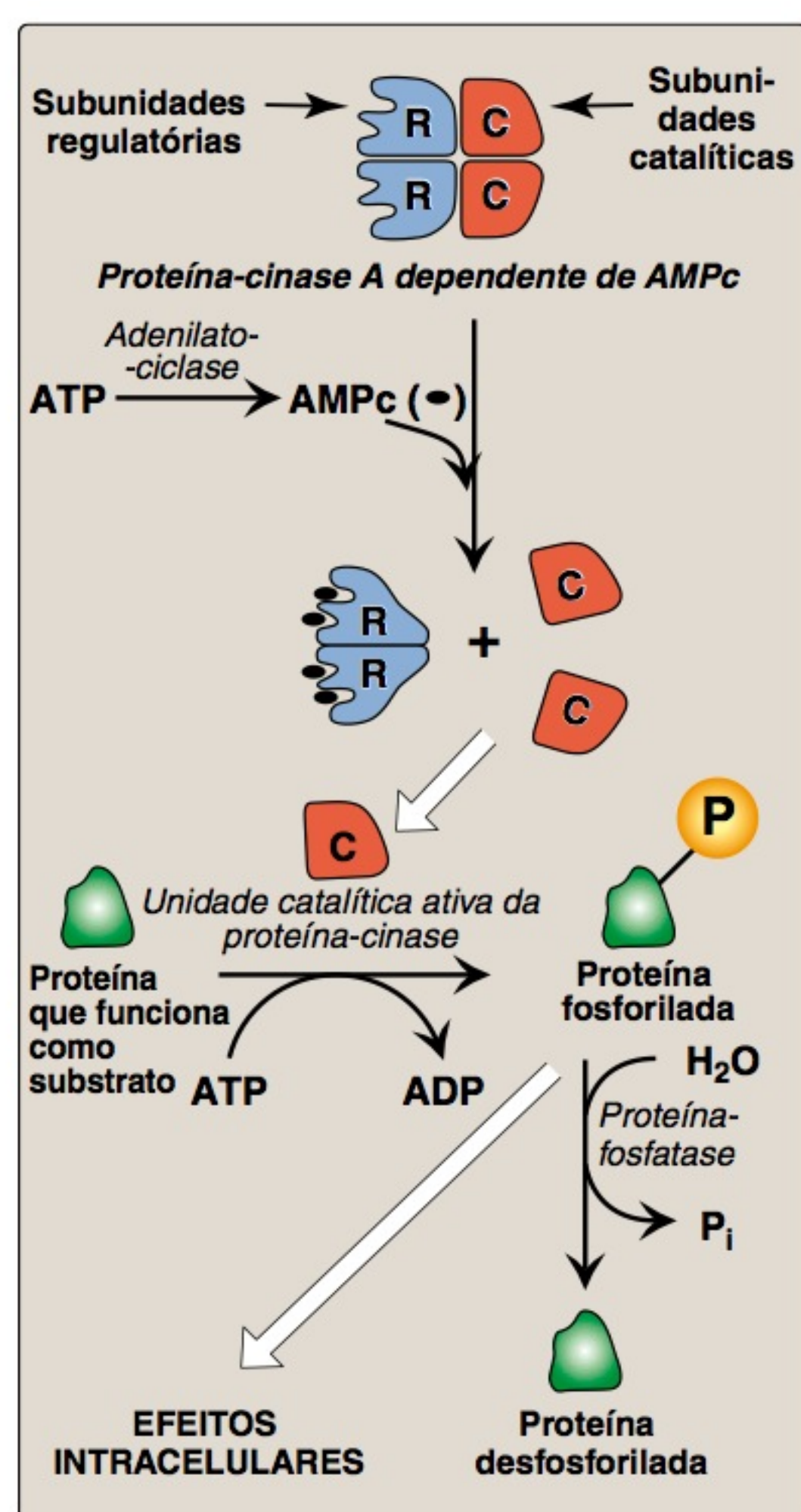


Figura 8.8
Ações do AMPc.

(Figura 8.8). Isso assegura que mudanças na atividade enzimática induzidas pela fosforilação de proteínas não sejam permanentes.

- Hidrólise do AMPc.** O AMPc é rapidamente hidrolisado para 5'-AMP pela *fosfodiesterase do AMPc*, representante de uma família de enzimas que cliva ligações de 3',5'-fosfodiéster cíclico. O 5'-AMP não é uma molécula de sinalização intracelular. Desse modo, os efeitos do neurotransmissor ou do hormônio mediados pelo aumento do AMPc terminam rapidamente se o sinal extracelular for removido. (Nota: a *fosfodiesterase* é inibida por derivados de metilxantinas, como teofilina e cafeína.)¹

III. VISÃO GERAL DA GLICÓLISE

A via glicolítica é utilizada em todos os tecidos para a quebra da glicose, com o objetivo de fornecer energia (na forma de ATP) e intermediários para outras vias metabólicas. A glicólise é o centro do metabolismo dos carboidratos, pois, no final das contas, praticamente todos os glicídeos – provenientes tanto da dieta como de reações catabólicas ocorrendo no organismo – podem ser convertidos em glicose (Figura 8.9A). O piruvato é o produto final da glicólise nas células com mitocôndrias e fornecimento adequado de oxigênio. Essa série de 10 reações é denominada glicólise aeróbia, pois é necessário o oxigênio para a reoxidação do NADH formado durante a oxidação do gliceraldeído-3-fosfato (Figura 8.9B). A glicólise aeróbia prepara as condições necessárias para a descarboxilação oxidativa do piruvato a acetil-CoA, o principal combustível do ciclo do ácido cítrico. Alternativamente, o piruvato é reduzido pelo NADH para formar lactato, reoxidando o NAD⁺ (Figura 8.9C). Essa conversão de glicose em lactato é denominada glicólise anaeróbia, pois pode ocorrer sem a participação do oxigênio. A glicólise anaeróbia permite a produção de ATP em tecidos sem mitocôndrias (p. ex., os eritrócitos) ou em células em que o oxigênio esteja em quantidade insuficiente.

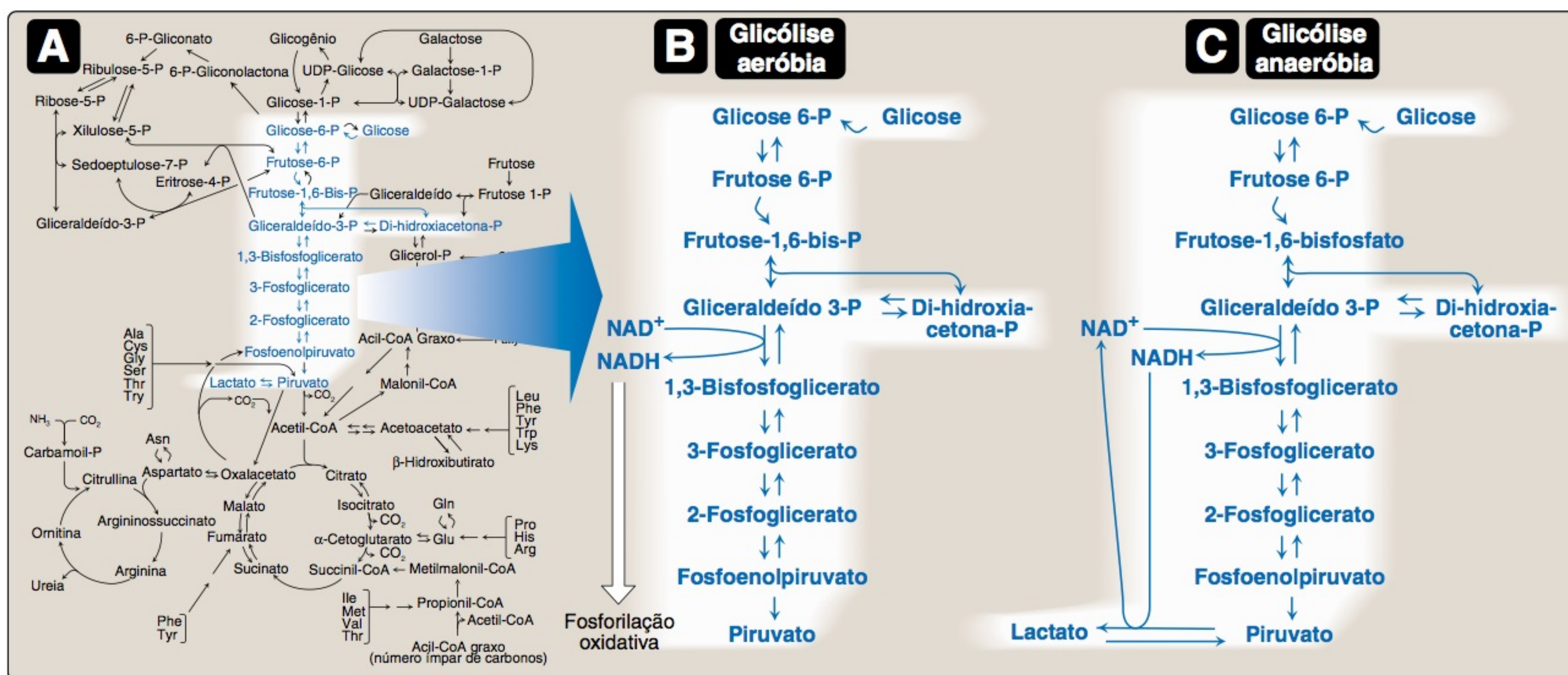


Figura 8.9

A. Glicólise, mostrada como uma das vias essenciais do metabolismo energético. B. Reações da glicólise aeróbia. C. Reações da glicólise anaeróbia.



¹Veja o Capítulo 10 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca do uso de derivados de metilxantinas como fármacos.

IV. TRANSPORTE DA GLICOSE PARA DENTRO DAS CÉLULAS

A glicose não é capaz de difundir diretamente para dentro das células. Portanto, ela utiliza um dos dois seguintes possíveis mecanismos de transporte: um sistema de transporte por difusão facilitada, independente de Na^+ , ou um sistema de cotransporte monossacarídeo- Na^+ .

A. Transporte por difusão facilitada, independente de Na^+

Esse sistema é mediado por uma família de 14 transportadores de glicose encontrados nas membranas celulares. Eles são designados GLUT-1 a GLUT-14 (isoformas 1 a 14 dos transportadores de glicose). Esses transportadores ocorrem na membrana em dois estados conformacionais (Figura 8.10). A glicose extracelular liga-se ao transportador, que, então, altera sua conformação, transportando a glicose através da membrana celular.

- 1. Especificidade tecidual da expressão gênica dos GLUTs.** Os transportadores de glicose apresentam padrão de expressão com especificidade tecidual. Por exemplo, o GLUT-3 é o principal transportador da glicose nos neurônios. O GLUT-1 é abundante nos eritrócitos e na barreira hemato-encefálica, mas apresenta pouca expressão no músculo do adulto, enquanto o GLUT-4 é abundante no tecido adiposo e no músculo esquelético. (Nota: o número de transportadores ativos do tipo GLUT-4 nesses tecidos é aumentado pela insulina. Veja a p. 311 para uma discussão a respeito do papel da insulina no transporte da glicose.) As demais isoformas de GLUT também apresentam distribuição com especificidade tecidual.
- 2. Funções especializadas das isoformas de GLUT.** Na difusão facilitada, o movimento da glicose segue o gradiente de concentração, ou seja, de uma concentração maior de glicose para uma menor. Por exemplo, GLUT-1, GLUT-3 e GLUT-4 estão envolvidos principalmente na captação de glicose a partir do sangue. Em contraste, o GLUT-2, encontrado no fígado e no rim, pode tanto transportar a glicose para dentro dessas células (quando os níveis de glicose no sangue estão altos) quanto transportar a glicose das células para o sangue (quando os níveis sanguíneos de glicose estiverem baixos, por exemplo, no jejum). (Nota: o GLUT-2 é encontrado também nas células β -pancreáticas.) O GLUT-5 é singular, no sentido de que é o principal transportador para a frutose (em vez de glicose) no intestino delgado e nos testículos.

B. Sistema de cotransporte monossacarídeo- Na^+

Esse processo requer energia e transporta a glicose “contra” um gradiente de concentração – ou seja, de concentrações menores de glicose fora da célula para concentrações maiores no interior da célula. Esse sistema é um processo mediado por um carreador, em que o movimento da glicose está acoplado ao gradiente de concentração do Na^+ , que é transportado concomitantemente à glicose para o interior da célula. O carreador é um transportador de glicose dependente de sódio. Esse tipo de transporte ocorre nas células epiteliais do intestino (veja a p. 87), dos túbulos renais e do plexo coroide. (Nota: o plexo coroide, parte da barreira hemato-encefálica, também contém GLUT-1.)

V. REAÇÕES DA GLICÓLISE

A conversão de glicose em piruvato acontece em dois estágios (Figura 8.11). As cinco primeiras reações da glicólise correspondem a uma fase de inves-

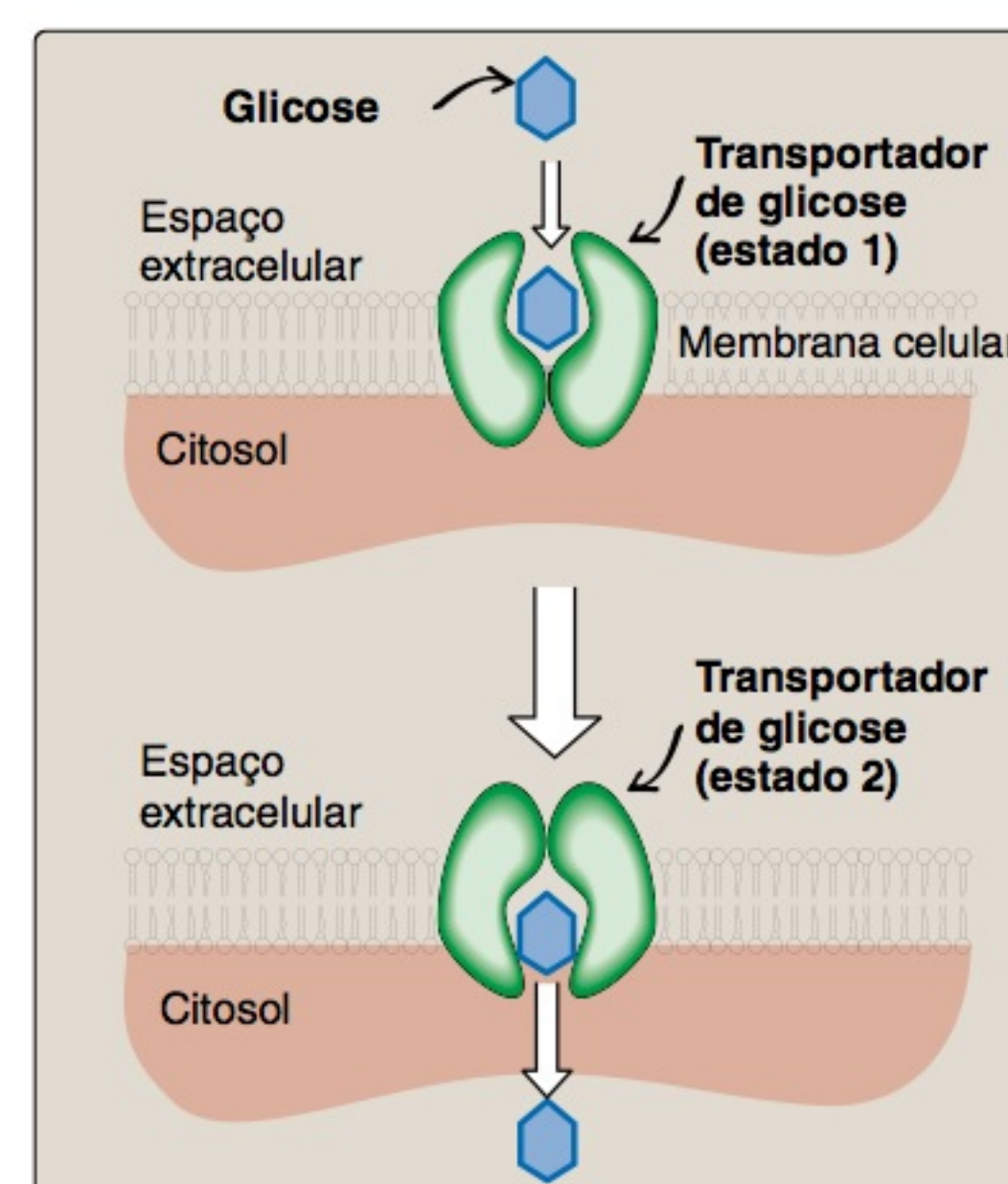


Figura 8.10

Representação esquemática do transporte facilitado de glicose através de uma membrana celular. (Nota: as proteínas GLUT contêm 12 hélices transmembrana.)

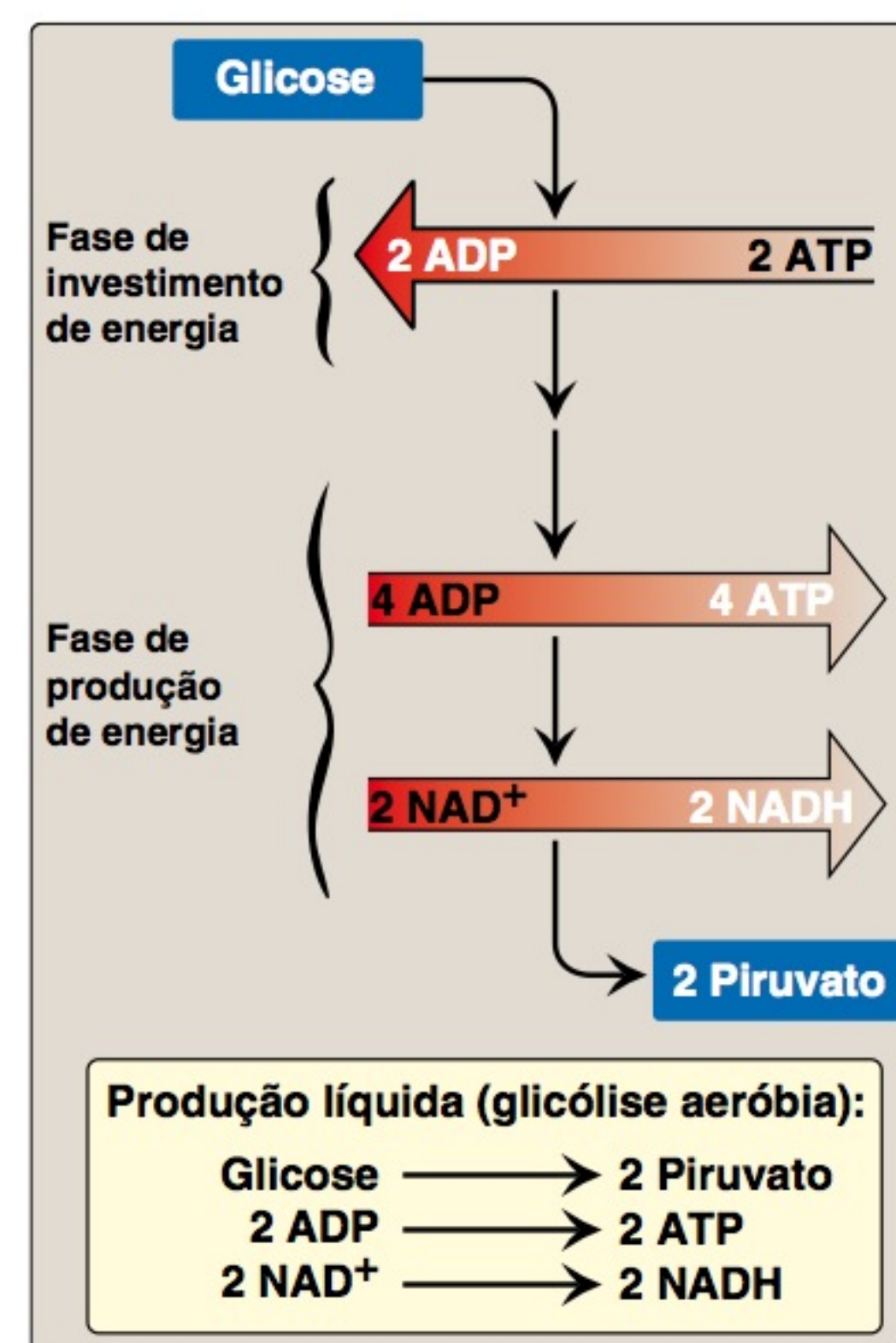
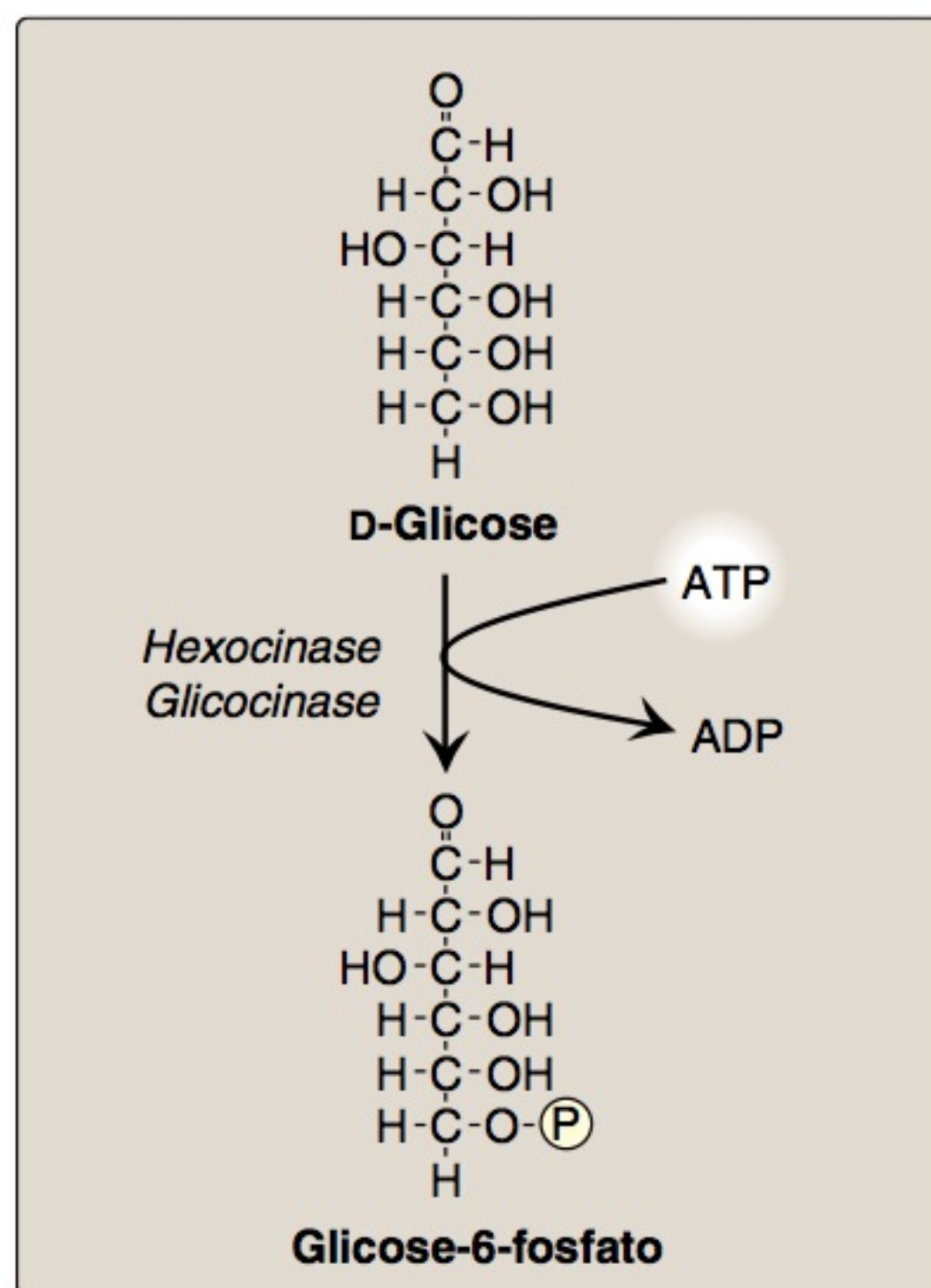


Figura 8.11

As duas fases da glicólise aeróbica.

**Figura 8.12**

Fase de investimento de energia: fosforilação da glicose.

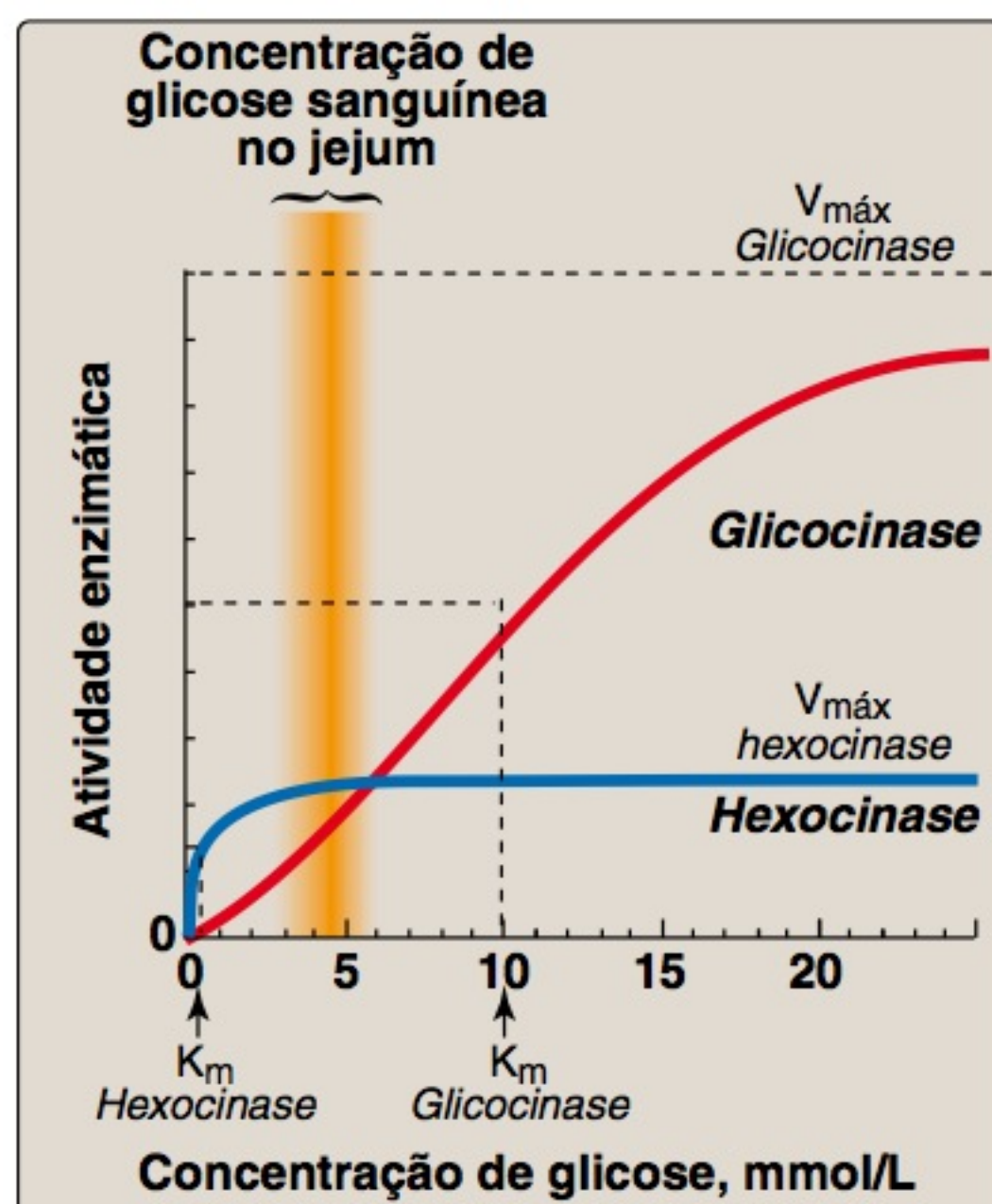
timento de energia, em que as formas fosforiladas dos intermediários são sintetizadas, à custa de gasto de ATP. As reações subsequentes da glicólise constituem uma fase de produção de energia, em que ocorre a produção líquida de duas moléculas de ATP por molécula de glicose metabolizada, por fosforilação no nível do substrato (veja na p. 102).

A. Fosforilação da glicose

As moléculas de glicídeos fosforiladas não atravessam facilmente as membranas celulares, pois não há carreadores específicos na membrana para esses compostos; além disso, eles são muito polares para difundir através da porção lipídica das membranas. A fosforilação irreversível da glicose (Figura 8.12), portanto, retém efetivamente o glicídeo na forma de glicose-6-fosfato citosólica, assegurando assim seu posterior metabolismo na célula. Os mamíferos possuem diversas isoformas da enzima *hexocinase*, que catalisa a fosforilação da glicose a glicose-6-fosfato.

1. **Hexocinase.** Na maior parte dos tecidos, a fosforilação da glicose é catalisada pela *hexocinase*, uma das três enzimas reguladoras da glicólise (veja também a *fosfofrutocinase* e a *piruvato-cinase*). A *hexocinase* apresenta especificidade ampla quanto ao substrato: é capaz de fosforilar diversas hexoses, além da glicose. A *hexocinase* é inibida pelo produto da reação, a glicose-6-fosfato, que se acumula quando a metabolização dessa hexose-fosfato está reduzida. A *hexocinase* apresenta um baixo K_m (e, portanto, uma alta afinidade, veja a p. 59) para a glicose. Isso permite a fosforilação eficiente e o metabolismo posterior da glicose, mesmo quando as concentrações teciduais da glicose estiverem baixas (Figura 8.13). A *hexocinase*, entretanto, apresenta baixa $V_{m\acute{a}x}$ para a glicose e, portanto, não pode sequestrar (reter) o fosfato celular na forma de hexoses fosforiladas, tampouco fosforilar mais açúcares do que a célula consegue utilizar.
2. **Glicocinase.** Nas células do parênquima hepático e nas células β das ilhotas no pâncreas, a *glicocinase* (também denominada *hexocinase D*, ou do *tipo IV*) é a principal enzima responsável pela fosforilação da glicose. Nas células β , a *glicocinase* funciona como sensor de glicose, determinando o limiar para a secreção de insulina (veja a p. 310). No fígado, a enzima facilita a fosforilação da glicose durante uma hiperglicemia. (Nota: a *hexocinase* também funciona como um sensor de glicose nos neurônios do hipotálamo, desempenhando um papel-chave na resposta adrenérgica à hipoglicemia – veja a p. 315). Ao contrário do que seu nome popular leva a crer, a *glicocinase* apresenta especificidade similar a de outras isozimas *hexocinases*.

- a. **Cinética.** A *glicocinase* difere da *hexocinase* quanto a diversas propriedades importantes. Por exemplo, ela apresenta um K_m muito maior, requerendo maior concentração de glicose para hemissaturação (Figura 8.13). Desse modo, a *glicocinase* funciona apenas quando a concentração intracelular de glicose no hepatócito está elevada, como durante o breve período que se segue ao consumo de uma refeição rica em carboidratos, quando altas quantidades de glicose são levadas até o fígado por meio da veia porta. A *glicocinase* apresenta alta $V_{m\acute{a}x}$, permitindo que o fígado remova eficientemente o excesso de glicose fornecido pela circulação porta. Isso impede que grandes quantidades de glicose cheguem à circulação sistêmica após uma refeição rica em carboidratos e, assim, minimiza a hiperglicemia durante o período absorptivo. (Nota: o GLUT-2 assegura que a glicose sanguínea equilibre-se rapidamente entre os dois lados da membrana do hepatócito).

**Figura 8.13**

Efeito da concentração de glicose sobre a velocidade da reação de fosforilação, catalisada pela *hexocinase* e pela *glicocinase*.

- b. Regulação pela frutose-6-fosfato e pela glicose.** A atividade da *glicocinase* não é inibida diretamente pela glicose-6-fosfato como são as demais *hexocinases*; mas, em vez disso, é inibida indiretamente pela frutose-6-fosfato (que está em equilíbrio com a glicose-6-fosfato, um produto da *glicocinase*) e é estimulada indiretamente pela glicose (um substrato da *glicocinase*), pelo mecanismo a seguir. A proteína reguladora da glicocinase (PRGK), nos hepatócitos, regula a atividade da *glicocinase* por meio de uma ligação reversível. Na presença de frutose-6-fosfato, a *glicocinase* é translocada para o núcleo, onde se liga fortemente à proteína reguladora, inativando essa enzima (Figura 8.14). Quando aumentam os níveis de glicose no sangue (e também no hepatócito, em consequência da função do GLUT-2), a glicose induz a liberação da *glicocinase* a partir da proteína reguladora, e a enzima retorna ao citosol, onde fosforila a glicose, dando glicose-6-fosfato. (Nota: a frutose-1-fosfato inibe a formação do complexo *glicocinase*-PRGK.)

A *glicocinase* funciona como um sensor de glicose no controle da homeostase da glicose plasmática. Mutações que diminuem a atividade da *glicocinase* são a causa de uma forma rara de diabetes, o diabetes tipo 2 (que normalmente teria início na maturidade) com início no indivíduo jovem.

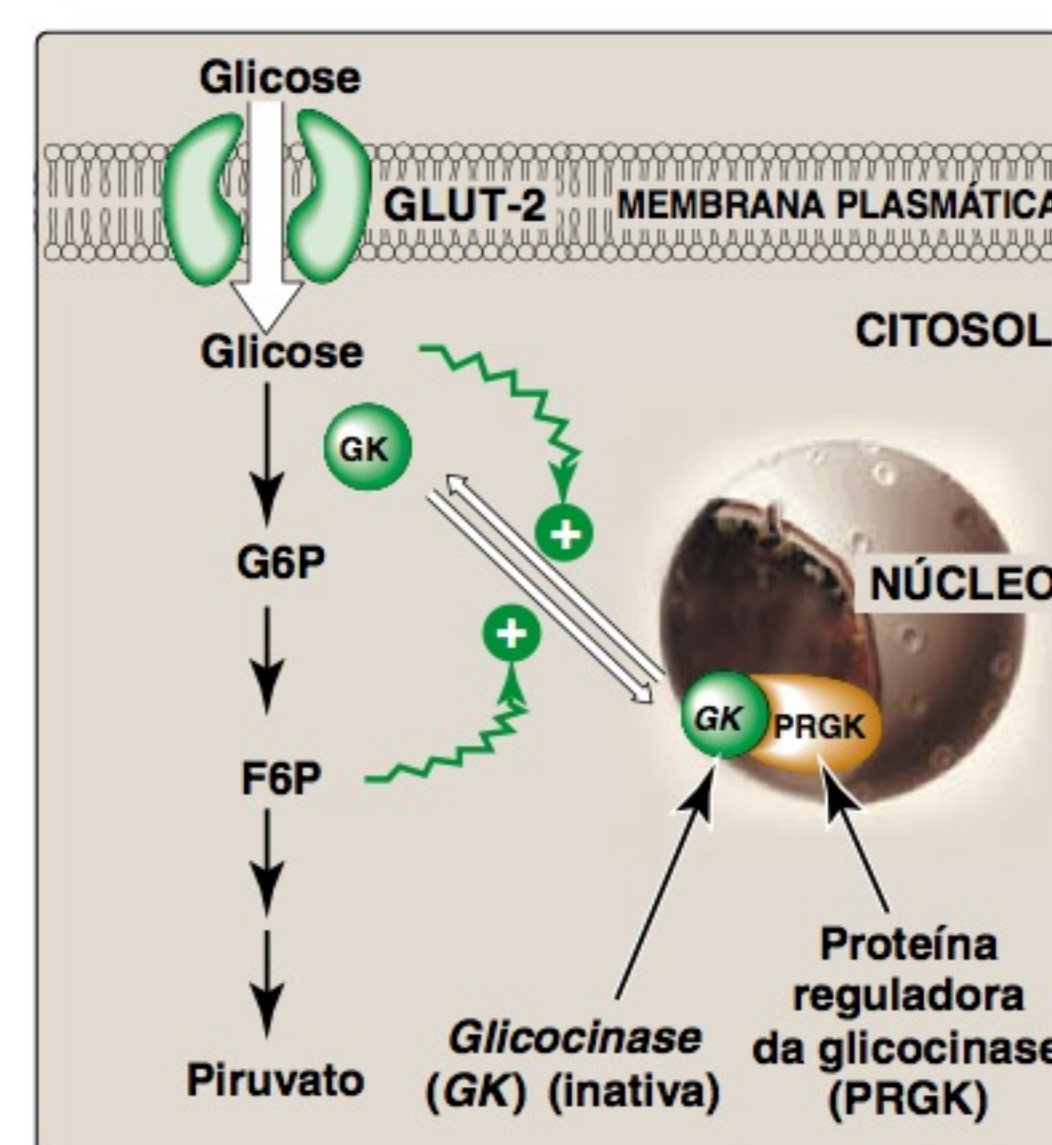


Figura 8.14

Regulação da atividade da glicocinase pela proteína reguladora da glicocinase.

B. Isomerização da glicose-6-fosfato

A isomerização da glicose-6-fosfato, com produção de frutose-6-fosfato, é catalisada pela *fosfoglicose-isomerase* (Figura 8.15). A reação é facilmente reversível e não é um passo limitante ou regulado.

C. Fosforilação da frutose-6-fosfato

A reação irreversível de fosforilação, catalisada pela *fosfofrutocinase-1* (*PFK-1*), é o mais importante ponto de controle e o passo limitante da velocidade da glicólise, além de ser a primeira reação comprometida com a via (Figura 8.16). A *PFK-1* é controlada pelas concentrações disponíveis de seus substratos, ATP e frutose-6-fosfato, e pelas substâncias reguladoras descritas a seguir.

- 1. Regulação pelos níveis energéticos dentro da célula.** A *PFK-1* é inibida alostericamente por níveis elevados de ATP, que atuam como sinal de “riqueza energética”, indicando abundância de compostos de alta energia. Níveis elevados de citrato, um intermediário do ciclo do ácido cítrico (veja a p. 109), também inibem a *PFK-1*. Essa enzima, por sua vez, é ativada alostericamente por altas concentrações de AMP, que sinalizam depleção das reservas de energia da célula. (Nota: a inibição pelo citrato favorece a utilização de glicose para a síntese de glicogênio – veja na p. 125.)
- 2. Regulação pela frutose-2,6-bisfosfato.** A frutose-2,6-bisfosfato é o mais potente ativador da *PFK-1* (Figura 8.16), sendo capaz de ativar a enzima mesmo quando os níveis de ATP estão altos. A frutose-2,6-bisfosfato é formada pela *fosfofrutocinase-2* (*PFK-2*), uma enzima diferente da *fosfofrutocinase-1*. A *PFK-2* é uma proteína bifuncional, tendo tanto atividade cinásica, que produz frutose-2,6-bisfosfato,

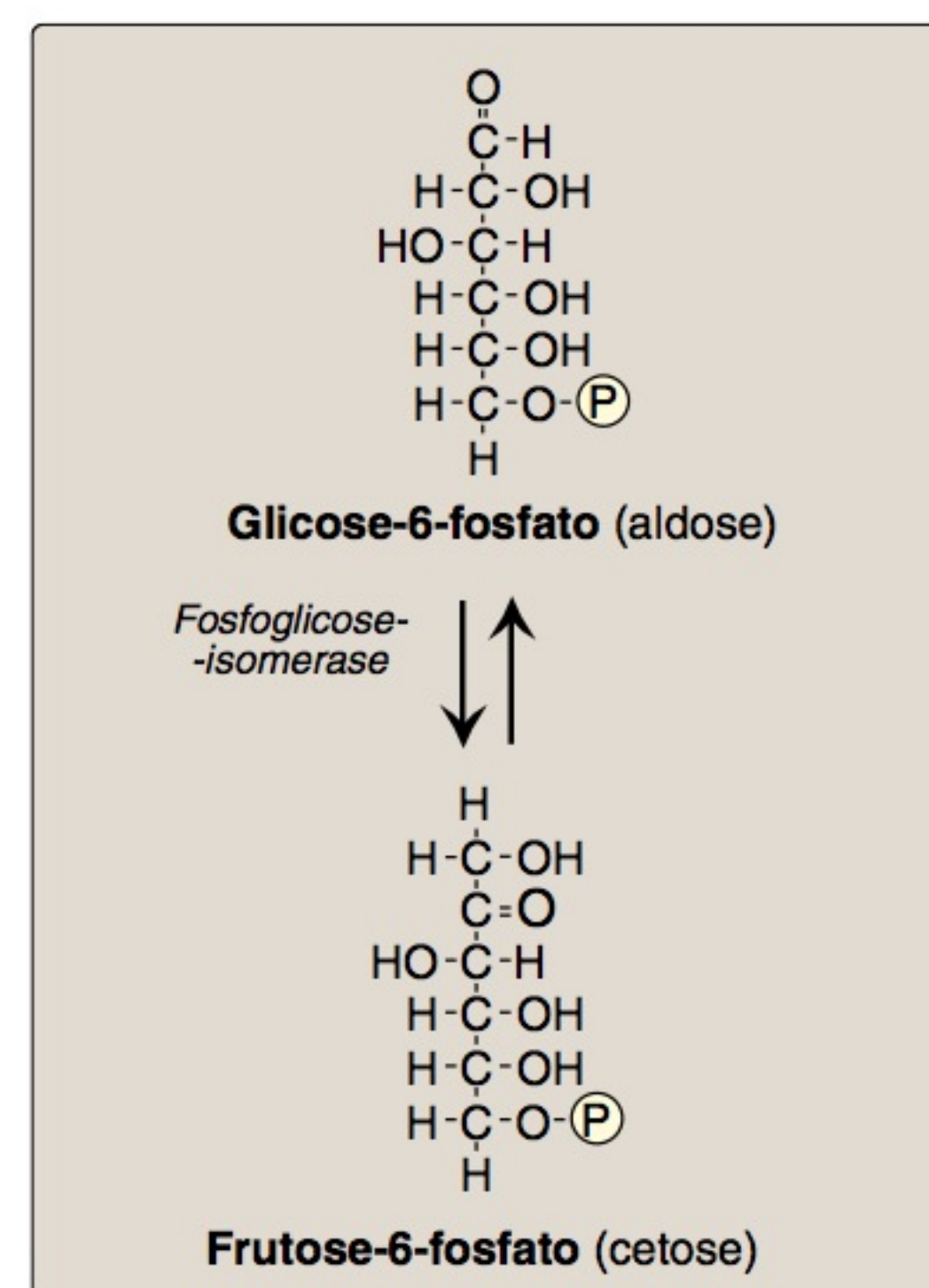


Figura 8.15

Isomerização aldose-cetose da glicose-6-fosfato em frutose-6-fosfato.

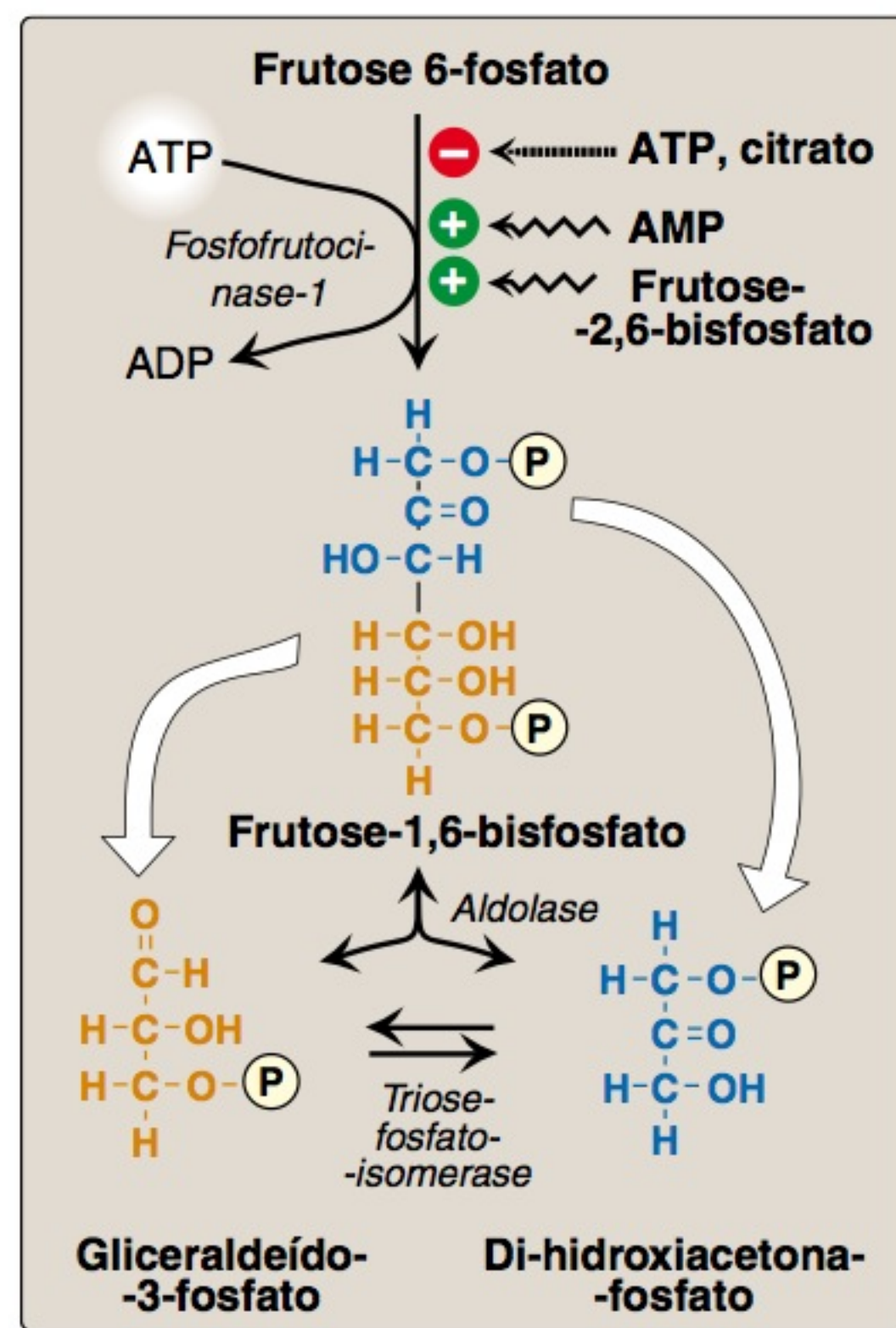


Figura 8.16

Fase de investimento de energia (continuação): conversão da frutose-6-fosfato em trioses-fosfato.

quanto atividade fosfatásica, que desfosforila a frutose-2,6-bisfosfato e a converte novamente em frutose-6-fosfato. No fígado, o domínio cinase é ativo quando desfosforilado e inativo quando fosforilado (Figura 8.17). (Nota: a frutose-2,6-bisfosfato também atua como inibidor da *frutose-1,6-bisfosfatase*, uma enzima da gliconeogênese. Veja a p. 120 para uma discussão acerca da regulação da gliconeogênese. As ações recíprocas da frutose-2,6-bisfosfato sobre a glicólise [ativação] e a gliconeogênese [inibição] asseguram que essas vias não estejam completamente ativas ao mesmo tempo, prevenindo um ciclo inútil, em que a glicose seria convertida em piruvato, seguindo-se nova síntese de glicose a partir do piruvato.)

- Durante o estado alimentado.** A diminuição nos níveis de glucagon, juntamente com níveis elevados de insulina, como ocorre após uma refeição rica em carboidratos, causa aumento na frutose-2,6-bisfosfato e, portanto, na velocidade da glicólise no fígado (Figura 8.17). Desse modo, a frutose-2,6-bisfosfato atua como sinal intracelular, indicando abundância de glicose.
- Durante o jejum.** Níveis elevados de glucagon e baixos de insulina, como ocorre durante o jejum (veja a p. 327), determinam uma diminuição na concentração intracelular de frutose-2,6-bisfosfato hepática. Isso resulta em diminuição na velocidade geral da glicólise e em aumento na gliconeogênese.

D. Clivagem da frutose-1,6-bisfosfato

A *aldolase* cliva a frutose-1,6-bisfosfato, dando di-hidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato (Figura 8.16). A reação é reversível e não regulada. (Nota: a *aldolase B*, isoforma encontrada no fígado e no rim, também cliva a frutose-1-fosfato e funciona no metabolismo da frutose da dieta – veja a p. 138.)

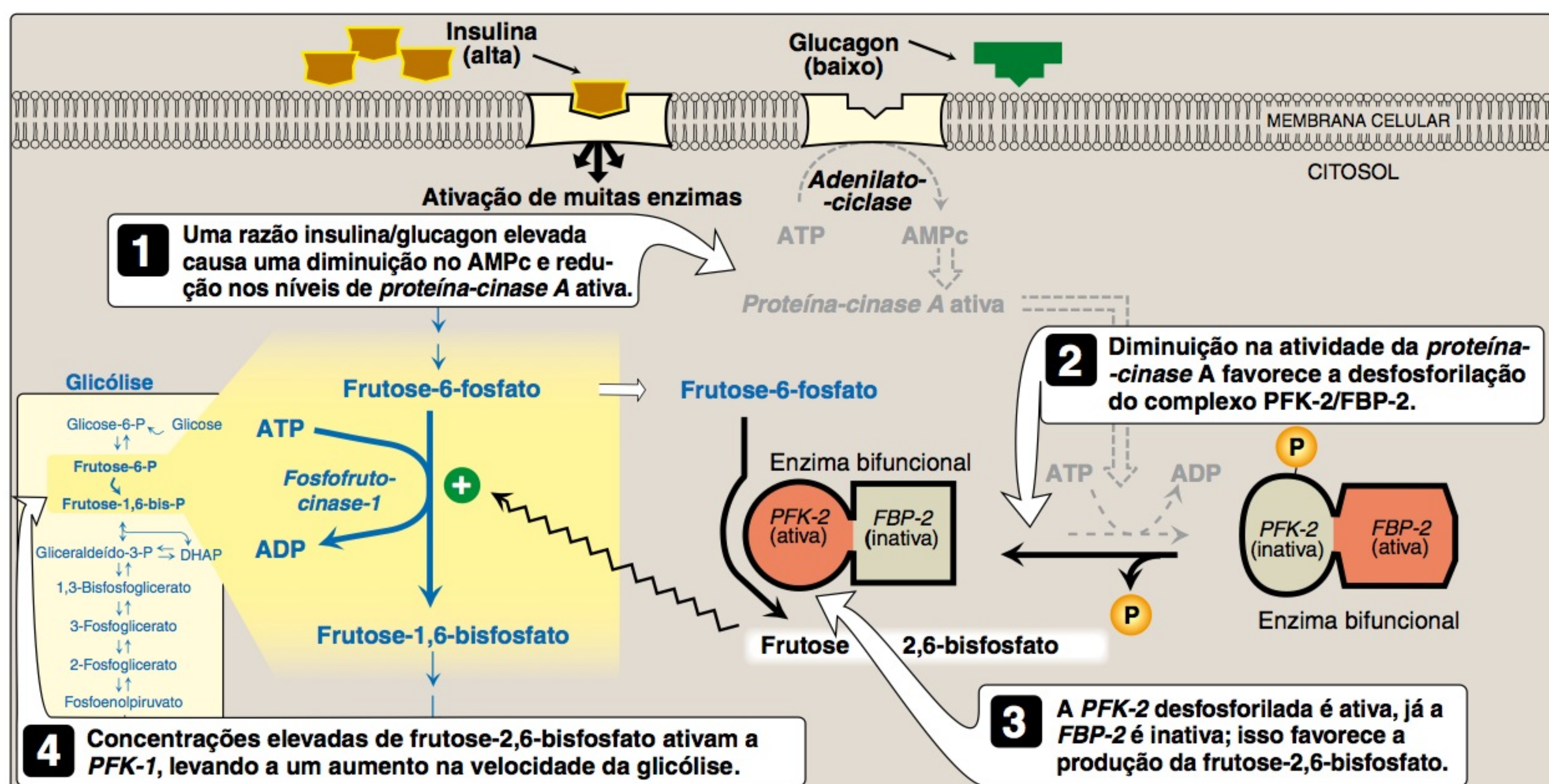


Figura 8.17

Efeito de concentrações elevadas de insulina sobre a concentração intracelular de frutose-2,6-bisfosfato no fígado. *PFK-2* = fosfofrutocinase-2; *FBP-2* = frutose-bisfosfato-fosfatase-2.

E. Isomerização da di-hidroxiacetona-fosfato

A *triose-fosfato-isomerase* interconverte essas duas trioses, a di-hidroxiacetona-fosfato e o gliceraldeído-3-fosfato (Figura 8.16). A di-hidroxiacetona-fosfato isomeriza, dando gliceraldeído-3-fosfato, para posterior metabolismo pela via glicolítica. Essa isomerização resulta na produção líquida de duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato pelos produtos da clivagem da frutose-1,6-bisfosfato.

F. Oxidação do gliceraldeído-3-fosfato

A conversão do gliceraldeído-3-fosfato em 1,3-bisfosfoglicerato pela *gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase* é a primeira reação de oxidação-redução da glicólise (Figura 8.18). (Nota: uma vez que há apenas uma quantidade limitada de NAD^+ na célula, o NADH produzido nessa reação deve ser reoxidado a NAD^+ para que a glicólise continue. Os dois principais mecanismos para a oxidação do NADH são: (1) a conversão ligada ao NADH de piruvato em lactato [anaeróbia, veja a p. 96] e (2) a oxidação do NADH via cadeia respiratória [aeróbia, veja a p. 75].)

- Síntese do 1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG).** A oxidação do grupo aldeído do gliceraldeído-3-fosfato a um grupo carboxila está acoplada à ligação de um P_i a esse grupo carboxila. O grupo fosfato de alta energia no carbono 1 do 1,3-BPG conserva boa parte da energia livre produzida pela oxidação do gliceraldeído-3-fosfato. A energia desse fosfato de alta energia impulsiona a síntese de ATP na próxima reação da glicólise.
- Mecanismo do envenenamento pelo arsênico.** A toxicidade do arsênico é explicada principalmente pela inibição de enzimas como a *piruvato-desidrogenase*, que requer ácido lipoico como coenzima (veja a p. 110). No entanto, o arsênico pentavalente (arsenato) também pode impedir a produção líquida de ATP e de NADH durante a glicólise, sem a inibição da via em si. Isso ocorre porque o arsenato compete com o fosfato inorgânico como substrato da *gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase*, formando um complexo que se hidrolisa espontaneamente, para produzir 3-fosfoglicerato (Figura 8.18). Por passar ao largo da síntese e da transferência do fosfato do 1,3-BPG, a célula é privada da energia normalmente obtida na via glicolítica. (Nota: o arsênico também substitui o P_i no domínio F_1 da *ATP-sintase* [veja na p. 78], resultando na formação de ADP-arsenato, que é rapidamente hidrolisado.)
- Síntese de 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) nos eritrócitos.** Parte do 1,3-BPG é convertida em 2,3-BPG pela ação da *bisfosfoglicerato-mutase* (Figura 8.18). O 2,3-BPG, encontrado apenas em quantidades-traço na maior parte das células, está presente em alta concentração nos eritrócitos (onde aumenta a liberação de O_2 , veja a p. 31). O 2,3-BPG é hidrolisado por uma *fosfatase*, dando 3-fosfoglicerato, outro intermediário da glicólise (Figura 8.18). Nos eritrócitos, a glicólise é modificada pela inclusão desses “desvios” de reações.

G. Síntese do 3-fosfoglicerato com produção de ATP

Quando o 1,3-BPG é convertido em 3-fosfoglicerato, o grupo fosfato de alta energia do 1,3-BPG é utilizado na síntese de ATP a partir de ADP (Figura 8.18). Essa reação é catalisada pela *fosfoglicerato-cinase*, que, ao contrário da maior parte das demais cinases, é fisiologicamente reversível. Uma vez que duas moléculas de 1,3-BPG são produzidas para

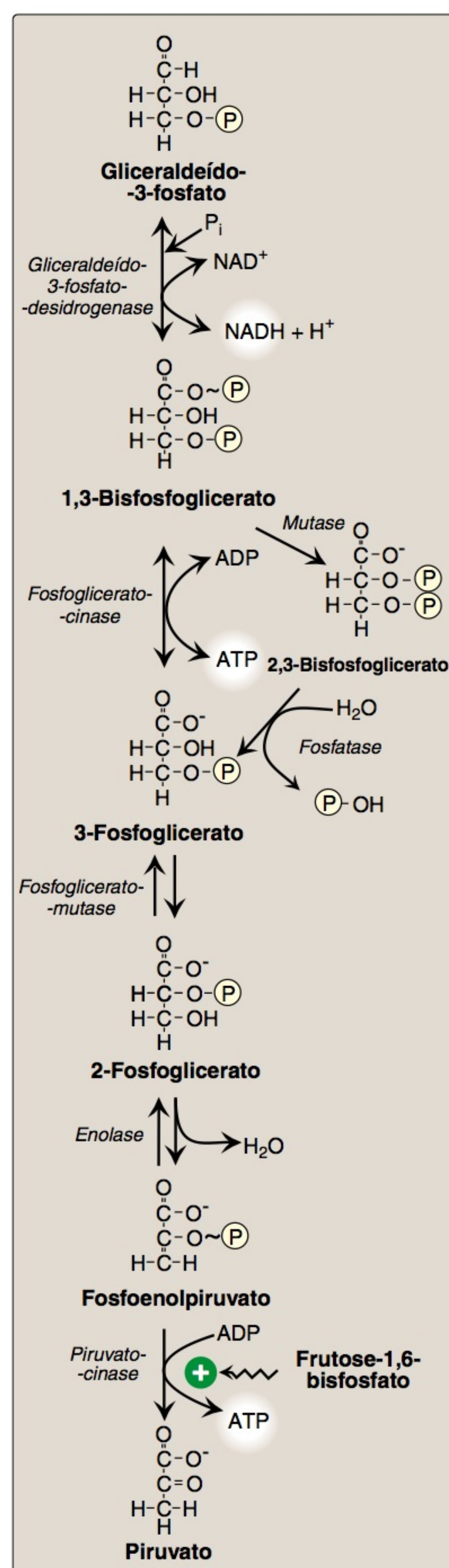


Figura 8.18

Fase de produção de energia: conversão de gliceraldeído-3-fosfato em piruvato.

cada molécula de glicose que entra na via glicolítica, a reação dessa cinase repõe as duas moléculas de ATP consumidas na formação inicial de glicose-6-fosfato e frutose-1,6-bisfosfato. (Nota: esse é um exemplo de fosforilação no nível do substrato, em que a energia necessária para a produção de um fosfato de alta energia está diretamente acoplada à oxidação de um substrato, em vez de resultar da cadeia transportadora de elétrons – veja o item J a seguir e a p. 113 para outros exemplos.)

H. Troca do grupo fosfato do carbono 3 para o carbono 2

A mudança do grupo fosfato do carbono 3 para o carbono 2 do fosfoglicerato pela *fosfoglicerato-mutase* é livremente reversível (Figura 8.18).

I. Desidratação do 2-fosfoglicerato

A desidratação do 2-fosfoglicerato pela *enolase* redistribui a energia dentro da molécula do 2-fosfoglicerato, resultando na formação do fosfoenolpiruvato (PEP), que contém um enol fosfato de alta energia (Figura 8.18). A reação é reversível, apesar de o produto ser um composto de alta energia.

J. Formação do piruvato, com produção de ATP

A conversão do PEP em piruvato é catalisada pela *piruvato-cinase*, a terceira reação irreversível da glicólise. O equilíbrio da reação da *piruvato-cinase* favorece a síntese de ATP (Figura 8.18). (Nota: esse é outro exemplo de fosforilação no nível do substrato.)

1. **Regulação por proação.** No fígado, a *piruvato-cinase* é ativada pela frutose-1,6-bisfosfato, o produto da reação da *fosfofrutocinase*. Essa regulação por proação (em vez da mais comum, por retroalimentação) tem o efeito de unir as atividades das duas cinases: o aumento na atividade da *fosfofrutocinase* resulta em níveis elevados de frutose-1,6-bisfosfato, ativando a *piruvato-cinase*.

2. **Modulação covalente da piruvato-cinase.** A fosforilação por uma *proteína-cinase dependente de AMPc* leva à inativação da *piruvato-cinase* no fígado (Figura 8.19). Quando os níveis sanguíneos de glicose estão baixos, um aumento no glucagon provoca elevação nos níveis intracelulares de AMPc, levando à fosforilação e à consequente inativação da *piruvato-cinase*. Desse modo, o PEP não consegue prosseguir na via glicolítica, entrando, então, na via da gliconeogênese. Isso explica, em parte, a inibição da glicólise hepática e a estimulação da gliconeogênese observadas em resposta ao glucagon. A desfosforilação da *piruvato-cinase* por uma *fosfoproteína-fosfatase* resulta na reativação da enzima.

3. **Deficiência da piruvato-cinase.** Um eritrócito maduro normal não apresenta mitocôndrias e é, portanto, completamente dependente da glicólise para a produção de ATP. Esse composto de alta energia é necessário para satisfazer as necessidades energéticas do eritrócito e também para alimentar as bombas necessárias para a manutenção da forma bicôncava e flexível dessa célula, o que permite que ela force seu caminho por capilares muito estreitos. A anemia observada na deficiência de enzimas glicolíticas é consequência da redução da velocidade da glicólise, levando à diminuição na produção de ATP. As alterações na membrana do eritrócito, resultantes dessa condição, levam a mudanças no formato da célula e, por fim, à sua fagocitose por células do sistema reticuloendotelial, especialmente por macrófagos do baço. A morte prematura desses

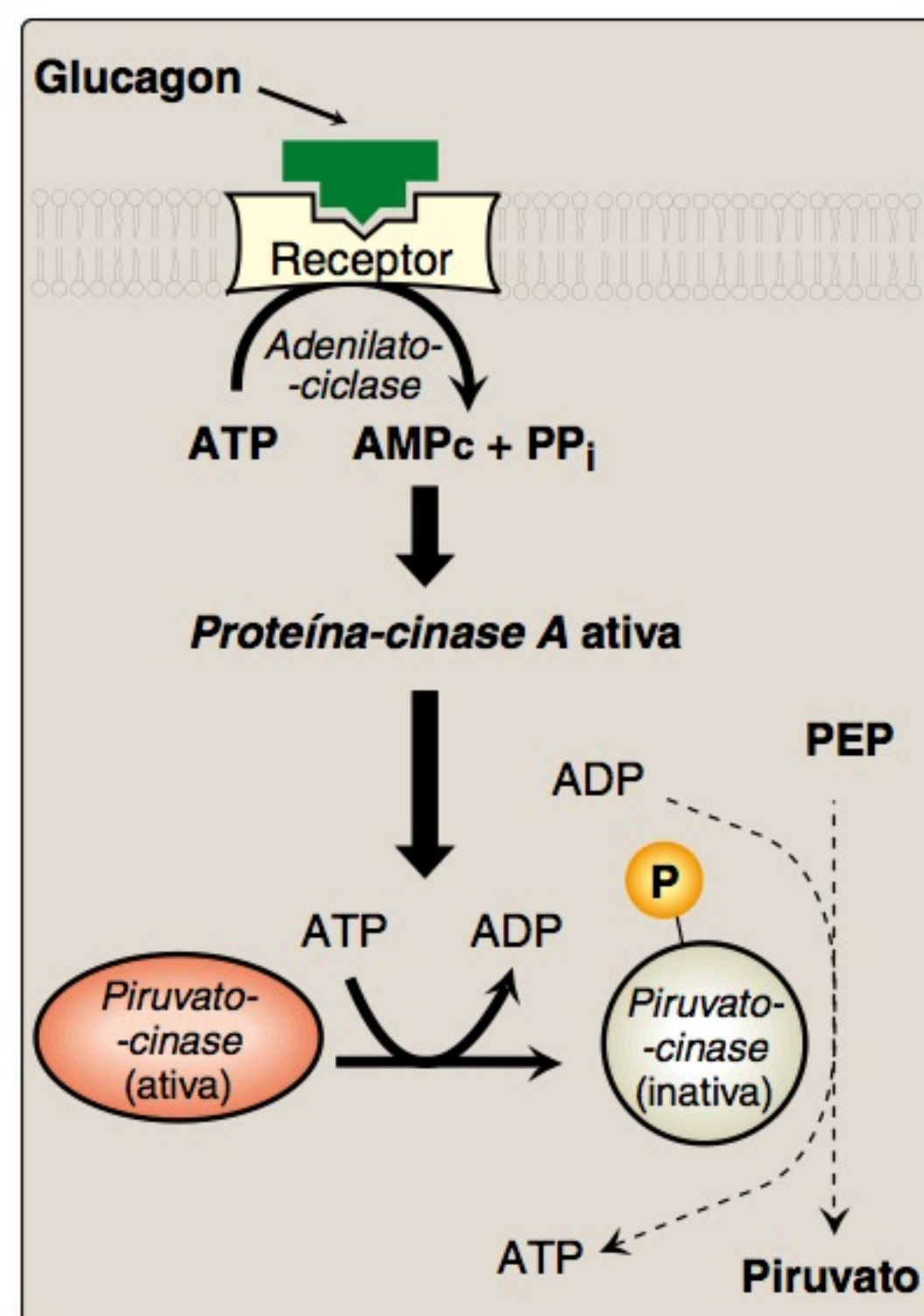


Figura 8.19

Modificação covalente da *piruvato-cinase* hepática, resultando em inativação da enzima.

eritrócitos resulta em anemia hemolítica. Entre os pacientes com os raros defeitos genéticos em enzimas glicolíticas, cerca de 95% apresentam deficiência na *piruvato-cinase* e 4% apresentam deficiência na *fosfoglicose-isomerase*. A deficiência de *piruvato-cinase* (PK) restringe-se aos eritrócitos e produz anemia hemolítica (i. e., por destruição dos eritrócitos) crônica, de moderada a grave, sendo que a forma grave requer transfusões regulares de eritrócitos. A gravidade da doença depende do grau de deficiência enzimática (geralmente de 5 a 25% dos níveis normais) e do grau em que os eritrócitos do paciente são capazes de compensar a deficiência, sintetizando níveis aumentados de 2,3-BPG (veja a p. 31). Quase todos os indivíduos com deficiência de PK possuem uma enzima mutante que apresenta propriedades anormais – mais frequentemente, alterações na cinética enzimática (Figura 8.20).

A deficiência de *piruvato-cinase* (PK) é a segunda causa mais comum de anemia hemolítica não esferocítica relacionada a deficiências enzimáticas (perdendo apenas para deficiência da *glicose-6-fosfato-desidrogenase*).

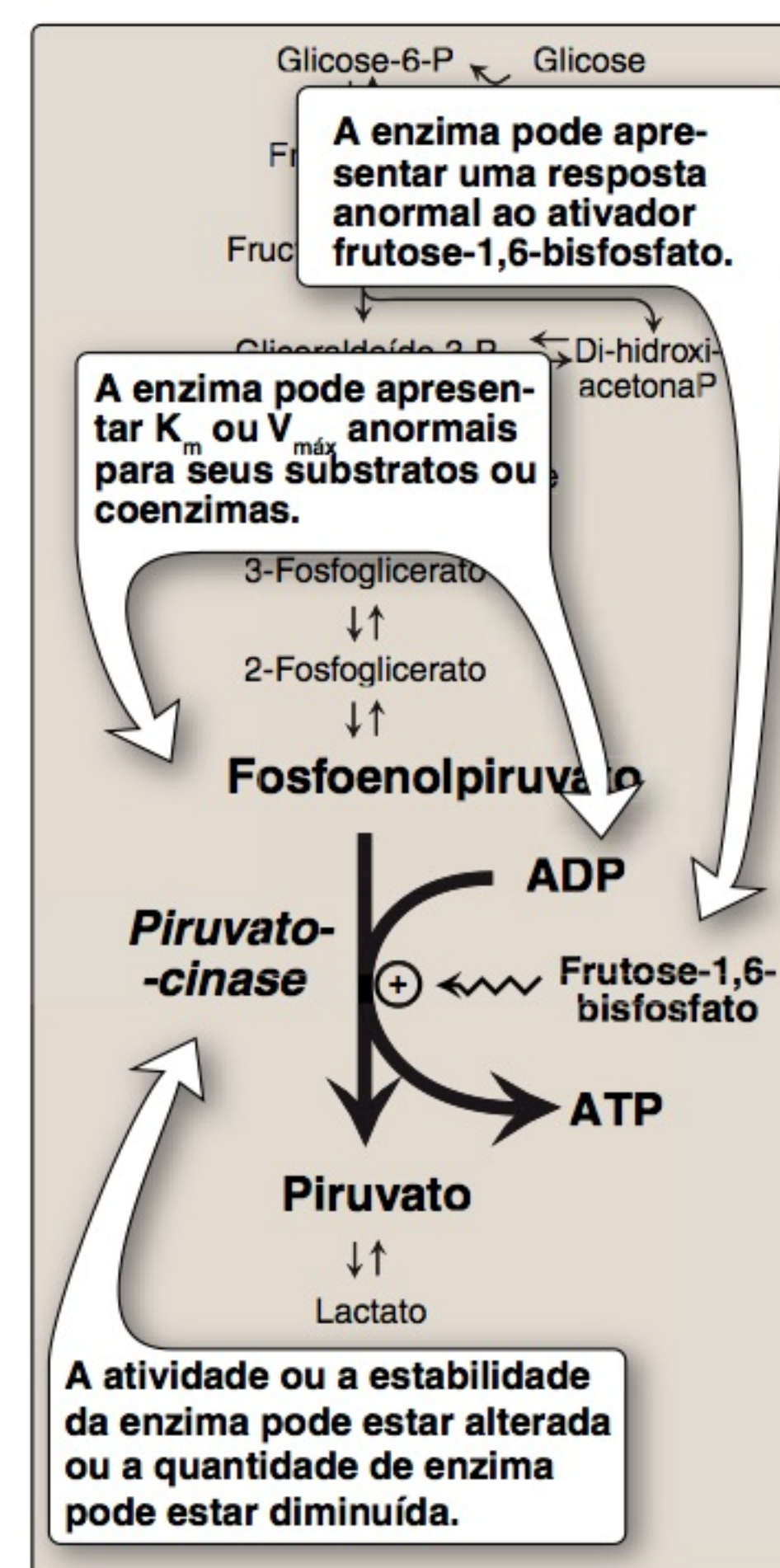


Figura 8.20

Alterações observadas em várias formas mutantes da *piruvato-cinase*.

K. Redução de piruvato a lactato

O lactato, formado pela ação da *lactato-desidrogenase*, é o produto final da glicólise anaeróbica nas células eucarióticas (Figura 8.21). A formação do lactato é o principal destino do piruvato no cristalino e na córnea do olho, na medula renal, nos testículos, nos leucócitos e nos eritrócitos, pois todos eles apresentam-se pobremente vascularizados e/ou privados de mitocôndrias.

- Formação de lactato no músculo.** No músculo esquelético em exercício, a produção de NADH (pela *gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase* e pelas três desidrogenases dependentes de NAD⁺ do ciclo do ácido cítrico, veja a p. 111) excede a capacidade oxidativa da cadeia respiratória. Isso resulta em aumento na razão NADH/NAD⁺, favorecendo a redução de piruvato a lactato. Portanto, durante o exercício intenso, o lactato se acumula no músculo, causando diminuição no pH intracelular, podendo levar a câibras*. Muito desse lactato acabará difundindo para a corrente sanguínea, podendo ser utilizado pelo fígado para produzir glicose (veja a p. 118).
- Consumo do lactato.** O sentido da reação da *lactato-desidrogenase* depende das concentrações intracelulares relativas de piruvato e lactato e da razão NADH/NAD⁺ na célula. Por exemplo, no fígado e no coração, a razão NADH/NAD⁺ é mais baixa que no músculo em exercício. Esses tecidos oxidam lactato (obtido a partir do sangue), produzindo piruvato. No fígado, o piruvato pode ser convertido em glicose, pela gliconeogênese, ou oxidado no ciclo do ácido cítrico. O músculo cardíaco oxida o lactato a CO₂ e H₂O, via ciclo do ácido cítrico.

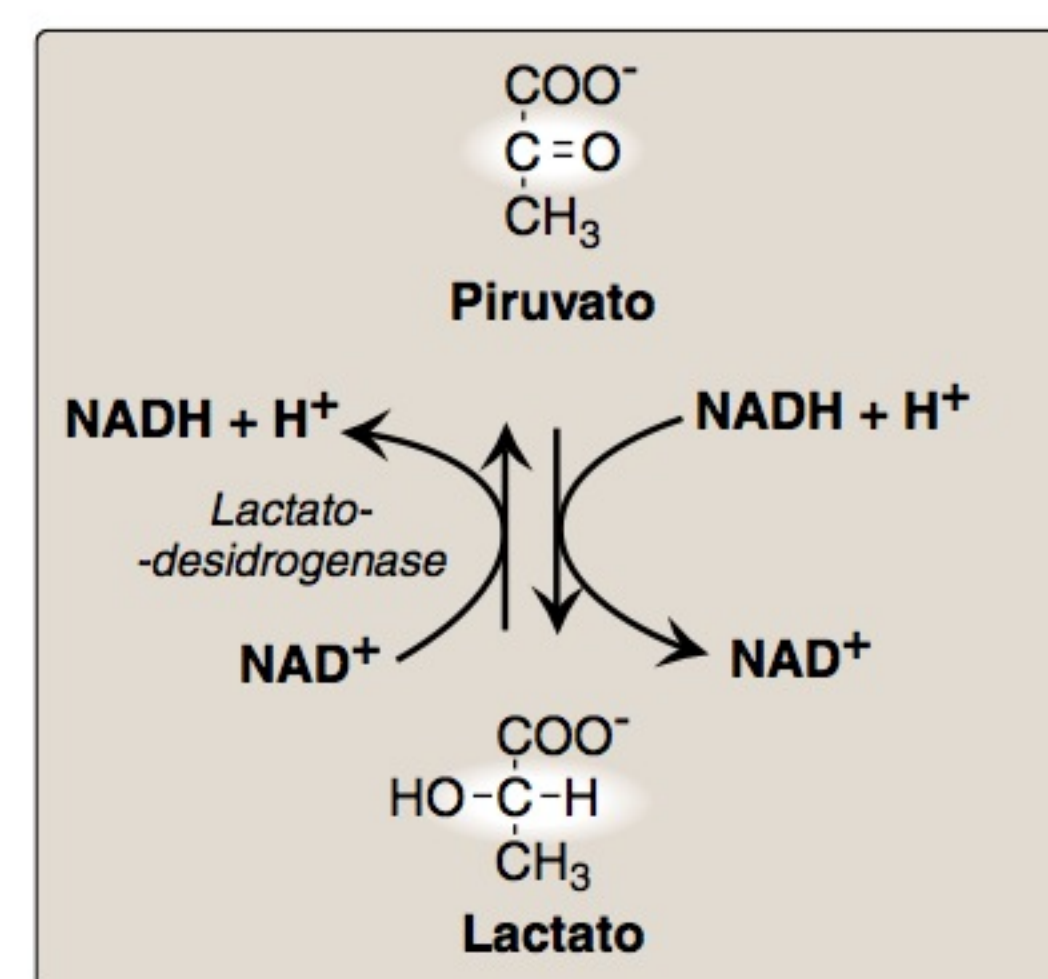


Figura 8.21

Interconversão de piruvato e lactato.

* N. de T. A maioria dos autores considera que o lactato pode estar envolvido na dor muscular sentida durante o exercício (como um dos fatores), porém não na câibra muscular (contração súbita e intensa do músculo, determinada por hiperexcitabilidade do neurônio motor). Acredita-se que a câibra durante o exercício seja determinada por um desequilíbrio nas concentrações de eletrólitos induzido pela sudorese, porém não existe consenso a esse respeito.

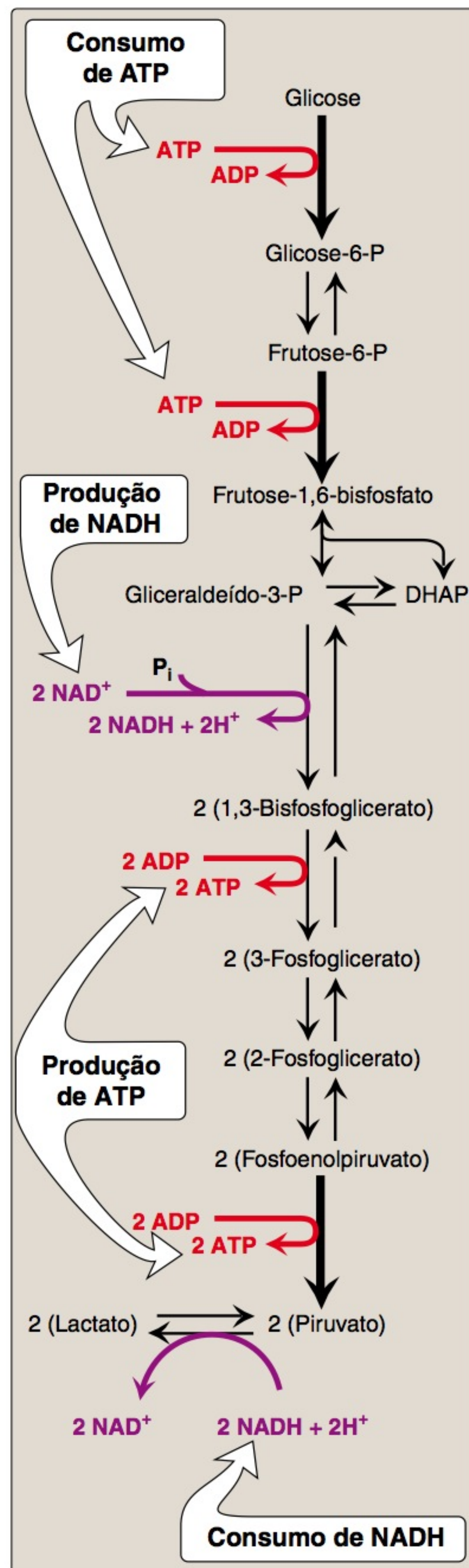


Figura 8.22

Resumo da glicólise anaeróbica. As reações envolvendo a produção ou o consumo de ATP ou NADH estão indicadas. As três reações irreversíveis da glicólise são mostradas com setas grossas. DHAP = di-hidroxiacetona-fosfato.

3. Acidose láctica. Concentrações elevadas de lactato no plasma – condição denominada acidose láctica – ocorrem quando há um colapso do sistema circulatório, como no infarto do miocárdio, na embolia pulmonar, na hemorragia não controlada ou quando o indivíduo está em choque. A falha em levar quantidades adequadas de oxigênio aos tecidos resulta em prejuízo na fosforilação oxidativa e em diminuição na síntese de ATP. Para sobreviver, as células utilizam a glicólise anaeróbica como sistema auxiliar para a produção de ATP, produzindo ácido láctico como produto final. (Nota: a produção de quantidades escassas de ATP pode significar a sobrevivência da célula durante o período necessário para o restabelecimento de um fluxo adequado de sangue para os tecidos.) O aumento no oxigênio necessário para a recuperação após um período em que a sua disponibilidade foi inadequada é denominado débito de oxigênio.

O débito de oxigênio está frequentemente relacionado à morbidade ou à mortalidade de pacientes. Em muitas situações clínicas, a medida dos níveis sanguíneos de ácido láctico fornece uma detecção rápida e precoce do débito de oxigênio no paciente, servindo também para monitorar sua recuperação.

L. Produção de energia com a glicólise

Apesar da produção de certa quantidade de ATP durante a glicólise, os produtos finais, piruvato ou lactato, ainda retêm a maior parte da energia originalmente contida na glicose. O ciclo do ácido cítrico é necessário para liberar completamente essa energia (veja a p. 109).

- 1. Glicólise anaeróbica.** Duas moléculas de ATP são geradas para cada molécula de glicose convertida em duas moléculas de lactato (Figura 8.22). Não há produção ou consumo líquido de NADH.
- 2. Glicólise aeróbica.** A produção e o consumo diretos de ATP são os mesmos que aqueles da glicólise anaeróbica, ou seja, um ganho líquido de dois ATPs por molécula de glicose. Duas moléculas de NADH são também produzidas para cada molécula de glicose. A glicólise aeróbica requer a oxidação da maior parte desse NADH pela cadeia de transporte de elétrons, produzindo aproximadamente três ATPs para cada molécula de NADH que chega à cadeia respiratória (veja a p. 77). (Nota: o NADH não é capaz de atravessar a membrana interna da mitocôndria, sendo necessários mecanismos de lançadeiras de elétrons [veja a p. 79].)

VI. REGULAÇÃO HORMONAL DA GLICÓLISE

A regulação da glicólise por ativação ou inibição alostérica, ou por fosforilação/desfosforilação de enzimas-chave, é de curto prazo – ou seja, influencia o consumo de glicose durante períodos de minutos ou horas. Sobrepostas a esses efeitos que mudam de momento a momento estão as influências hormonais, mais lentas e frequentemente mais profundas, sobre a quantidade de proteína enzimática sintetizada. Esses efeitos podem resultar em aumentos na atividade enzimática de 10 a 20 vezes, que ocorrem tipicamente ao longo de horas a dias. Embora o foco deste capítulo seja a glicólise, alterações recíprocas ocorrem nas enzimas-chave da gliconeogênese, descritas no Capítulo 10

(veja a p. 117). O consumo regular de refeições ricas em carboidratos ou a administração regular de insulina determinam um aumento nas quantidades de *glicocinase*, *fosfofrutocinase* e *piruvato-cinase* no fígado (Figura 8.23). Essas mudanças refletem um aumento na transcrição gênica, resultando em aumento na síntese dessas enzimas. A alta atividade dessas três enzimas favorece a conversão de glicose em piruvato, uma característica do estado alimentado (veja a p. 321). Por sua vez, quando o glucagon plasmático está alto e a insulina está baixa, a transcrição gênica e a síntese de *glicocinase*, *fosfofrutocinase* e *piruvato-cinase* estão diminuídas, como por exemplo no jejum e no diabetes.

VII. DESTINOS ALTERNATIVOS DO PIRUVATO

A. Descarboxilação oxidativa do piruvato

A descarboxilação oxidativa do piruvato pelo *complexo da piruvato-desidrogenase* é uma via importante nos tecidos com alta capacidade oxidativa, como o músculo cardíaco (Figura 8.24). A *piruvato-desidrogenase* converte irreversivelmente o piruvato, produto final da glicólise, em acetil-CoA, principal combustível para o ciclo do ácido cítrico (veja a p. 109) e bloco construtivo para a síntese de ácidos graxos (veja a p. 183).

B. Carboxilação do piruvato a oxalacetato

A carboxilação do piruvato a oxalacetato (OAA) pela *piruvato-carboxilase* é uma reação dependente de biotina (Figura 8.24). Essa reação é importante, pois repõe os intermediários do ciclo do ácido cítrico e fornece substrato para a gliconeogênese (veja a p. 118).

C. Redução de piruvato a etanol (microrganismos)

A conversão de piruvato em etanol ocorre por meio de duas reações, mostradas resumidamente na Figura 8.24. A descarboxilação do piruvato pela *piruvato-descarboxilase* ocorre em leveduras e em certos microrganismos, mas não em humanos. A enzima requer como coenzima a tiamina-pirofosfato e catalisa uma reação semelhante àquela descrita para a *piruvato-desidrogenase* (veja a p. 110).

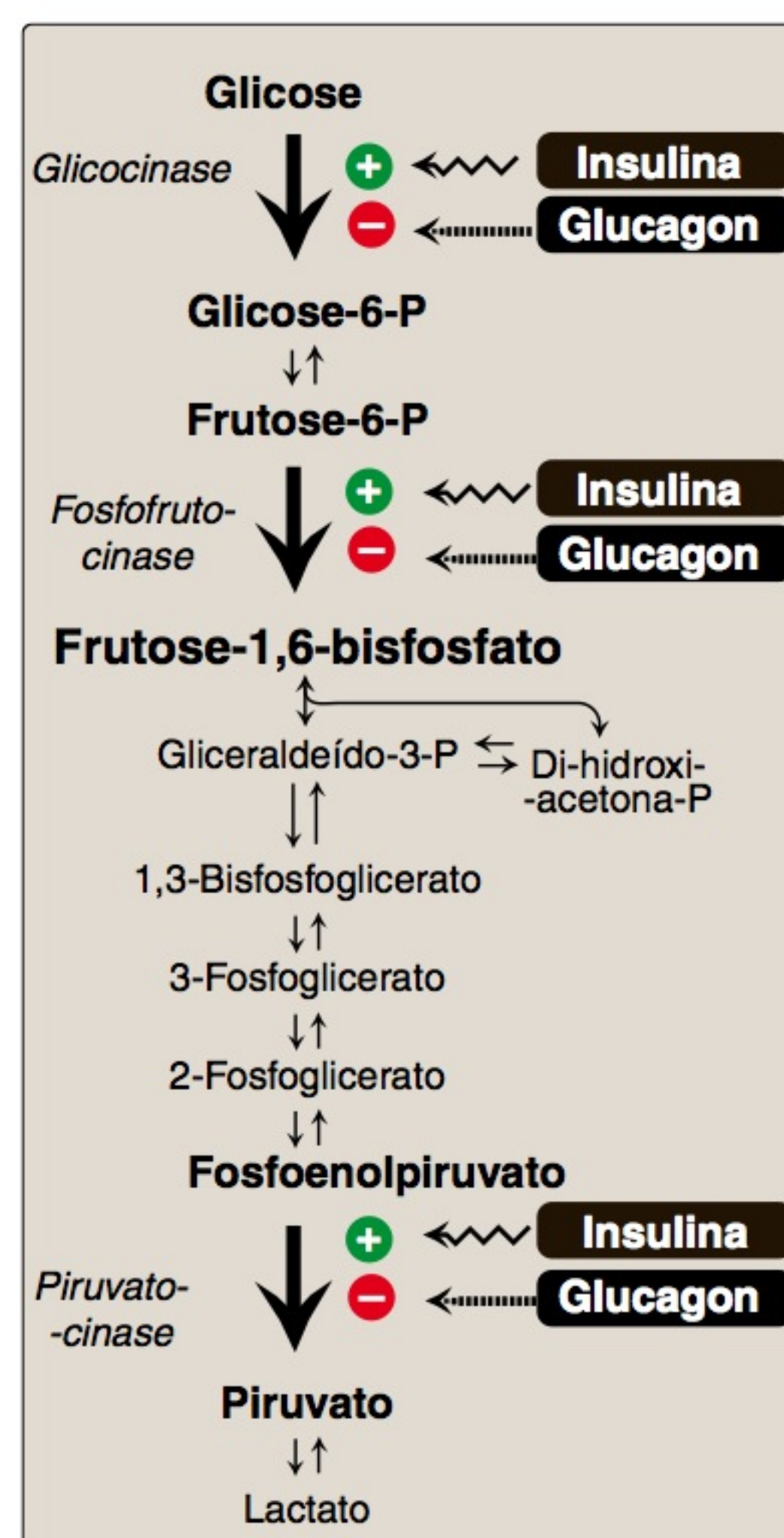


Figura 8.23

Efeito da insulina e do glucagon sobre a síntese de enzimas-chave da glicólise no fígado.

VIII. RESUMO DO CAPÍTULO

A maior parte das vias pode ser classificada como **catabólica** (degrada moléculas complexas em poucos produtos simples) ou **anabólica** (sintetiza produtos finais complexos a partir de precursores simples). As **reações catabólicas** também **capturam energia química** na forma de **ATP**, a partir da degradação de moléculas ricas em energia. As **reações anabólicas requerem energia**, geralmente fornecida pela quebra do ATP. A velocidade de uma via metabólica pode responder a **sinais reguladores**, por exemplo, **ativadores** ou **inibidores alostéricos**, originários de **dentro da célula**. A sinalização **entre células** fornece uma integração do metabolismo. A mais importante forma para esse tipo de comunicação é a **sinalização química** entre células, por meio, por exemplo, de **hormônios** ou **neurotransmissores**. Moléculas que funcionam como **segundos mensageiros** fazem a retransmissão do sinal químico (hormônio ou neurotransmissor) para respostas intracelulares adequadas. A **adenilato-**

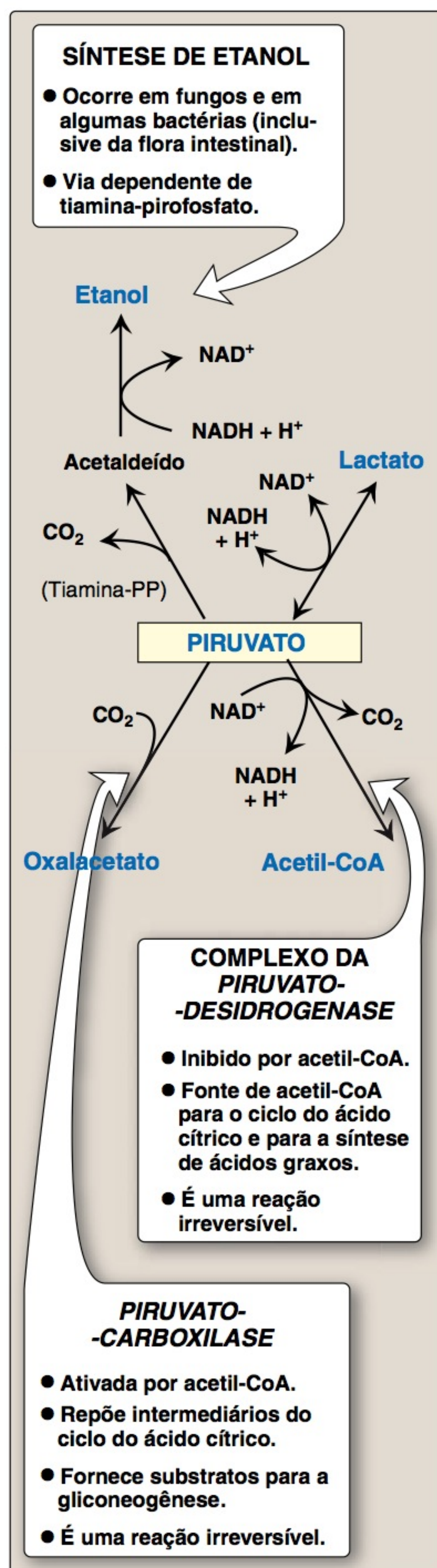


Figura 8.24

Resumo dos destinos metabólicos do piruvato.

-ciclase é uma enzima ligada à membrana que sintetiza **AMP cíclico (AMPc)** em resposta a sinais químicos, como os hormônios **glucagon** e **adrenalina**. Após a ligação de um **hormônio** a seu **receptor** na **superfície celular**, uma proteína regulatória dependente de GTP (**proteína G**) é ativada e, por sua vez, ativa a **adenilato-ciclase**. O AMPc produzido ativa uma **proteína-cinase**, que fosforila um conjunto de enzimas, provocando a ativação ou a desativação dessas enzimas. A fosforilação é revertida por **proteínas-fosfatases**. A **glicólise aeróbia**, cujo produto final é o piruvato, ocorre em células com mitocôndrias e com suprimento adequado de oxigênio. A **glicólise anaeróbia**, cujo produto final é o **ácido láctico**, ocorre em células desprovidas de mitocôndrias ou em células que não apresentam suprimento suficiente de oxigênio. A glicose é transportada através das membranas por uma dentre pelo menos 14 **isoformas** de **transportadores de glicose (GLUTs)**. O **GLUT-1** é abundante em **eritrócitos** e no **encéfalo**, o **GLUT-4** (**dependente de insulina**) é encontrado no **músculo** e no **tecido adiposo** e o **GLUT-2** é encontrado no **fígado** e nas **células β** do pâncreas. A conversão de glicose em piruvato (**glicólise**, veja a Figura 8.25) ocorre em dois estágios: uma **fase de investimento de energia**, na qual intermediários fosforilados são sintetizados à custa de ATP, e uma **fase de produção de energia**, na qual o ATP é produzido. Na fase de investimento de energia, a glicose é fosforilada pela **hexocinase** (encontrada na **maior parte dos tecidos**) ou pela **glicocinase** (uma hexocinase encontrada em **hepatócitos** e nas **células β** do pâncreas). A **hexocinase** apresenta **alta afinidade (baixo K_m)** pela glicose e **baixa $V_{m\acute{a}x}$** e é **inibida** pela **glicose-6-fosfato**. A **glicocinase** apresenta **alto K_m** para a glicose e **maior $V_{m\acute{a}x}$** . Ela é **inibida** indiretamente pela **frutose-6-fosfato** e **ativada** pela **glicose**. A **transcrição** do gene da glicocinase é **aumentada pela insulina**. A glicose-6-fosfato é isomerizada, dando frutose-6-fosfato, que é fosforilada pela **fosfofrutocinase**, produzindo **frutose-1,6-bisfosfato**. Essa enzima é **inibida alostericamente** por **ATP** e por **citrato** e **ativada** por **AMP**. A **frutose-2,6-bisfosfato**, cuja síntese é **ativada** pela **insulina**, é o mais potente ativador alostérico da fosfofrutocinase. Um total de **dois ATPs são utilizados** nessa fase da glicólise. A frutose-1,6-bisfosfato é clivada, formando duas trioses posteriormente metabolizadas pela via glicolítica, produzindo piruvato. Durante essas reações, **quatro ATPs e dois NADHs são produzidos** a partir de ADP e NAD^+ . O passo final na síntese de piruvato a partir do fosfoenolpiruvato é catalisado pela **piruvato-cinase**. Essa enzima é **ativada alostericamente** pela **frutose-1,6-bisfosfato** e controlada **hormonalmente**, sendo **ativada** pela **insulina** e **inibida** pelo **glucagon**, via **cascata do AMPc**. A **deficiência da piruvato-cinase** perfaz 95% de todos os defeitos herdados em enzimas glicolíticas. Essa deficiência restringe-se aos **eritrócitos** e causa **anemia hemolítica crônica** moderada a grave. Na **glicólise anaeróbia**, o NADH é reoxidado a NAD^+ pela **conversão de piruvato em ácido láctico**. Isso ocorre em células que apresentam poucas ou nenhuma mitocôndria, como os **eritrócitos**, e em tecidos em que a produção de NADH excede a capacidade oxidativa da cadeia respiratória, como no **músculo em exercício**. Concentrações elevadas de lactato no plasma (**acidose láctica**) ocorrem quando há **colapso do sistema circulatório** ou quando o indivíduo está em **choque**. O piruvato pode ainda ser (1) **descarboxilado oxidativamente** pela **piruvato-desidrogenase**, produzindo **acetil-CoA**; (2) **carboxilado** a **oxalacetato** (intermediário do ciclo do ácido cítrico) pela **piruvato-carboxilase** ou (3) **reduzido** a **etanol** em microrganismos pela **piruvato-descarboxilase**.

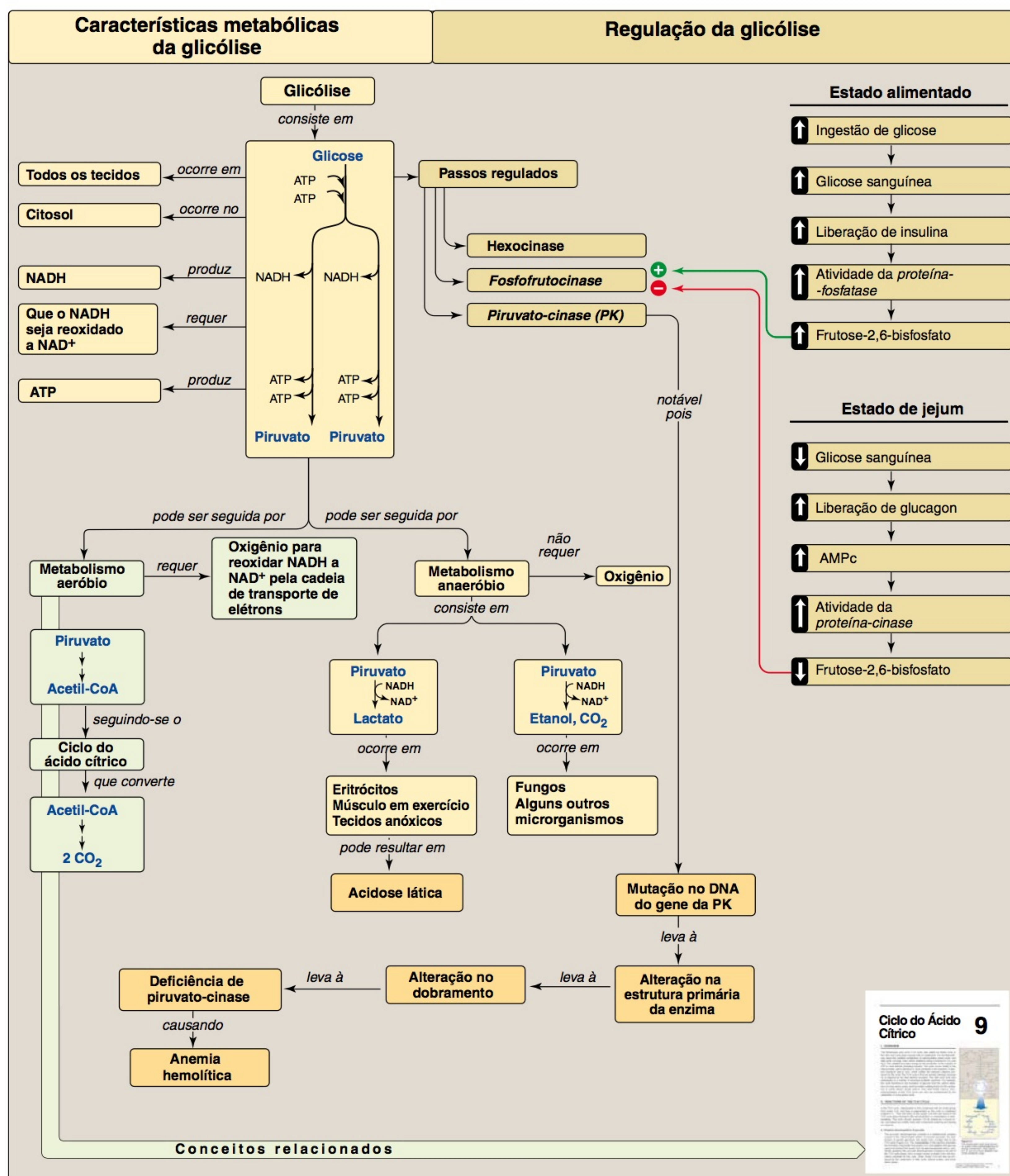


Figura 8.25

Mapa de conceitos-chave para a glicólise.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

8.1 Qual das seguintes afirmativas a respeito da glicólise está correta?

- A. A conversão de glicose em lactato requer a presença de oxigênio.
- B. A hexocinase é importante para o metabolismo hepático da glicose apenas durante o período absorptivo, após o consumo de uma refeição contendo carboidratos.
- C. A frutose-2,6-bisfosfato é um potente inibidor da fosfofrutocinase.
- D. As reações reguladas são também as reações irreversíveis.
- E. A conversão de glicose em lactato produz dois ATPs e dois NADHs.

Resposta correta = D. As reações da hexocinase, da fosfofrutocinase e da piruvato-cinase são todas irreversíveis, além de serem os passos reguladores na glicólise. A conversão de glicose em lactato (glicólise anaeróbia) é um processo que não envolve oxidação ou redução líquida e, assim, o oxigênio não é necessário. A glicocinase (e não a hexocinase) é importante no metabolismo hepático da glicose apenas no período absorptivo, após o consumo de uma refeição contendo carboidratos. A frutose-2,6-bisfosfato é um potente ativador (e não inibidor) da fosfofrutocinase. A conversão de glicose em lactato produz dois ATPs, mas não há produção líquida de NADH.

8.2 A reação catalisada pela fosfofrutocinase-1:

- A. É ativada por altas concentrações de ATP e citrato.
- B. Utiliza frutose-1-fosfato como substrato.
- C. É a reação limitante da velocidade da via glicolítica.
- D. Está próxima ao equilíbrio na maior parte dos tecidos.
- E. É inibida pela frutose-2,6-bisfosfato.

Resposta correta = C. A fosfofrutocinase é a enzima marca-passo da glicólise. É inibida por ATP e citrato, utiliza frutose-6-fosfato como substrato e catalisa uma reação distante do equilíbrio. A reação é ativada por frutose-2,6-bisfosfato.

8.3 Comparado com o estado de repouso, o músculo esquelético em contração vigorosa apresenta:

- A. Um aumento na conversão de piruvato em lactato.
- B. Redução na oxidação de piruvato a CO_2 e água.
- C. Diminuição na razão NADH/NAD^+ .
- D. Diminuição na concentração de AMP.
- E. Redução nos níveis de frutose-2,6-bisfosfato.

Resposta correta = A. O músculo em contração vigorosa mostra aumento na produção de lactato e taxa aumentada de oxidação do piruvato, em comparação com o músculo esquelético em repouso. Os níveis de AMP e NADH aumentam, enquanto uma mudança na concentração de frutose-2,6-bisfosfato não representa fator-chave na regulação da glicólise no músculo.

8.4 Um homem de 43 anos apresentava sintomas de fraqueza, fadiga, falta de ar e tonturas. Seus níveis de hemoglobina estavam abaixo de 7 g/dL (os valores normais para o sexo masculino são acima de 13,5 g/dL). Os eritrócitos do paciente mostravam produção de lactato anormalmente baixa. Uma deficiência de qual das seguintes enzimas seria a causa mais provável para a anemia observada nesse paciente?

- A. Fosfoglicose-isomerase
- B. Fosfofrutocinase
- C. Piruvato-cinase
- D. Hexocinase
- E. Lactato-desidrogenase

Resposta correta = C. Diminuição na produção de lactato no eritrócito indica um defeito na glicólise. Entre pacientes apresentando defeitos genéticos em enzimas da via glicolítica, cerca de 95% mostram deficiência na piruvato-cinase. A deficiência da piruvato-cinase é a segunda causa mais comum (após deficiência na glicose-6-fosfato-desidrogenase) de anemia hemolítica relacionada a deficiências enzimáticas.

Esse transporte é efetuado por um transportador específico para o piruvato, que ajuda esse composto a cruzar a membrana mitocondrial interna. Uma vez na matriz, o piruvato é convertido em acetil-CoA pelo *complexo da piruvato-desidrogenase*, um complexo multienzimático (Figura 9.2). No sentido estrito, o *complexo da piruvato-desidrogenase* não é parte do ciclo do ácido cítrico propriamente, mas é uma importante fonte de acetil-CoA – o substrato de dois carbonos que alimenta o ciclo.

1. **Enzimas componentes do complexo.** O *complexo da piruvato-desidrogenase* (PDH) é um agregado multimolecular que apresenta três enzimas: a *piruvato-desidrogenase* (E_1 , também chamada *descarboxilase*), a *di-hidrolipoil-transacetilase* (E_2) e a *di-hidrolipoil-desidrogenase* (E_3). Cada uma delas catalisa uma parte da reação geral (Figura 9.2). A associação física dessas enzimas une as reações na sequência apropriada, sem a liberação dos intermediários. Além das enzimas participantes na conversão do piruvato em acetil-CoA, o complexo também possui duas enzimas reguladoras fortemente ligadas, a *piruvato-desidrogenase-cinase* e a *piruvato-desidrogenase-fosfatase*.
2. **Coenzimas.** O *complexo da piruvato-desidrogenase* contém cinco coenzimas, que atuam como carreadores ou como oxidantes para os intermediários das reações mostradas na Figura 9.2. A E_1 requer tiamina-pirofosfato (TPP), a E_2 requer ácido lipoico e coenzima A e a E_3 requer FAD e NAD^+ .

Deficiências de tiamina ou niacina podem causar sérios problemas relacionados ao sistema nervoso central. Isso ocorre porque as células nervosas são incapazes de produzir quantidade suficiente de ATP (via ciclo do ácido cítrico) para seu funcionamento adequado se o complexo da *piruvato-desidrogenase* estiver inativo. A síndrome de Wernicke-Korsakoff, uma encefalopatia/psicose relacionada à deficiência de tiamina, pode ser observada também em pacientes que abusam de álcool.

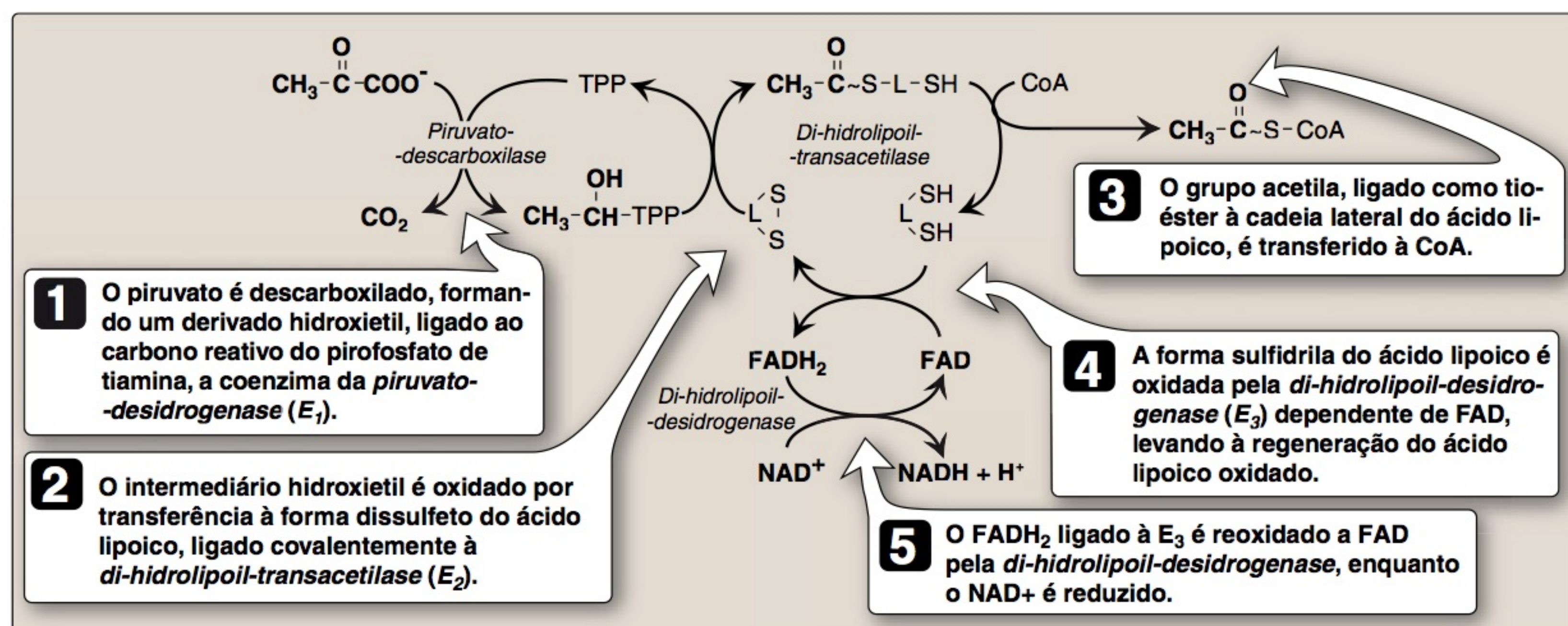


Figura 9.2

Mecanismo de ação do complexo da *piruvato-desidrogenase*. TPP = pirofosfato de tiamina; L = ácido lipoico.

3. **Regulação do complexo da piruvato-desidrogenase.** As duas enzimas reguladoras que fazem parte do complexo ativam e inativam a E_1 alternadamente, por meio de modificação covalente: a *PDH-cinase independente de AMPc* fosforila e, desse modo, inibe a E_1 , enquanto a *PDH-fosfatase* desfosforila e ativa a E_1 (Figura 9.3). A *cinase* é ativada alostericamente por ATP, acetil-CoA e NADH. Portanto, na presença desses sinais de alta energia, o *complexo da piruvato-desidrogenase* tem sua ação diminuída. O piruvato também é um inibidor potente da *piruvato-desidrogenase-cinase*. Desse modo, se a concentração de piruvato aumentar, a E_1 apresentará sua atividade máxima. O cálcio é um forte ativador da *PDH-fosfatase*, estimulando a atividade da E_1 . Isso é especialmente importante no músculo esquelético, onde a liberação de Ca^{2+} durante a contração estimula o *complexo da piruvato-desidrogenase* e, conseqüentemente, a produção de energia. (Nota: embora a regulação covalente pelas enzimas *cinase* e *fosfatase* tenha um papel-chave, o complexo também está sujeito à inibição pelo produto [NADH, acetil-CoA].)
4. **Deficiência na piruvato-desidrogenase.** Embora rara, a deficiência no componente E_1 do *complexo da piruvato-desidrogenase* é a causa bioquímica mais comum de acidose láctica congênita. A deficiência nessa enzima resulta na incapacidade de converter piruvato em acetil-CoA, fazendo que o piruvato seja desviado para a reação de formação de ácido láctico, via *lactato-desidrogenase* (veja a p. 103). Isso gera problemas sobretudo para o encéfalo, que depende do ciclo do ácido cítrico para a produção da maior parte de sua energia e é especialmente sensível à acidose. Os sintomas são variáveis e incluem neurodegeneração, espasticidade muscular e, na forma que tem início no período neonatal, morte prematura. O defeito na E_1 é ligado ao X, no entanto, devido à importância dessa enzima para o encéfalo, a deficiência afeta ambos os sexos. Assim sendo, o defeito é classificado como dominante ligado ao X. Não há tratamento comprovadamente eficiente para a deficiência do *complexo da piruvato-desidrogenase*, contudo, a restrição de carboidratos na dieta e a suplementação com TPP podem reduzir os sintomas em alguns pacientes.

A síndrome de Leigh (encefalomielopatia necrosante subaguda) é um distúrbio neurológico raro e progressivo, que resulta de defeitos na produção mitocondrial de ATP, principalmente em função de mutações no *complexo da PDH*, na cadeia transportadora de elétrons ou na *ATP-sintase*. Tanto o DNA nuclear quanto o DNAmt podem estar afetados.

5. **Mecanismo do envenenamento pelo arsênico.** Como descrito anteriormente (veja a p. 101), o arsênico pode interferir com a glicólise na reação que utiliza *gliceraldeído-3-fosfato*, diminuindo, assim, a produção de ATP. O “envenenamento por arsênico”, no entanto, é devido principalmente à inibição de enzimas que utilizam ácido lipoico como coenzima, incluindo a E_2 do *complexo da piruvato-desidrogenase*, a α -cetoglutarato-desidrogenase (veja a seguir) e a desidrogenase de α -cetoácidos de cadeia ramificada (veja a p. 266). O arsenito (forma trivalente do arsênico) forma um complexo estável com os grupos tiol ($-\text{SH}$) do ácido lipoico, impedindo assim que o composto possa ser utilizado como coenzima. Quando o arsenito se liga ao ácido lipoico no *complexo da piruvato-desidrogenase*, o piruvato (e, conseqüente-

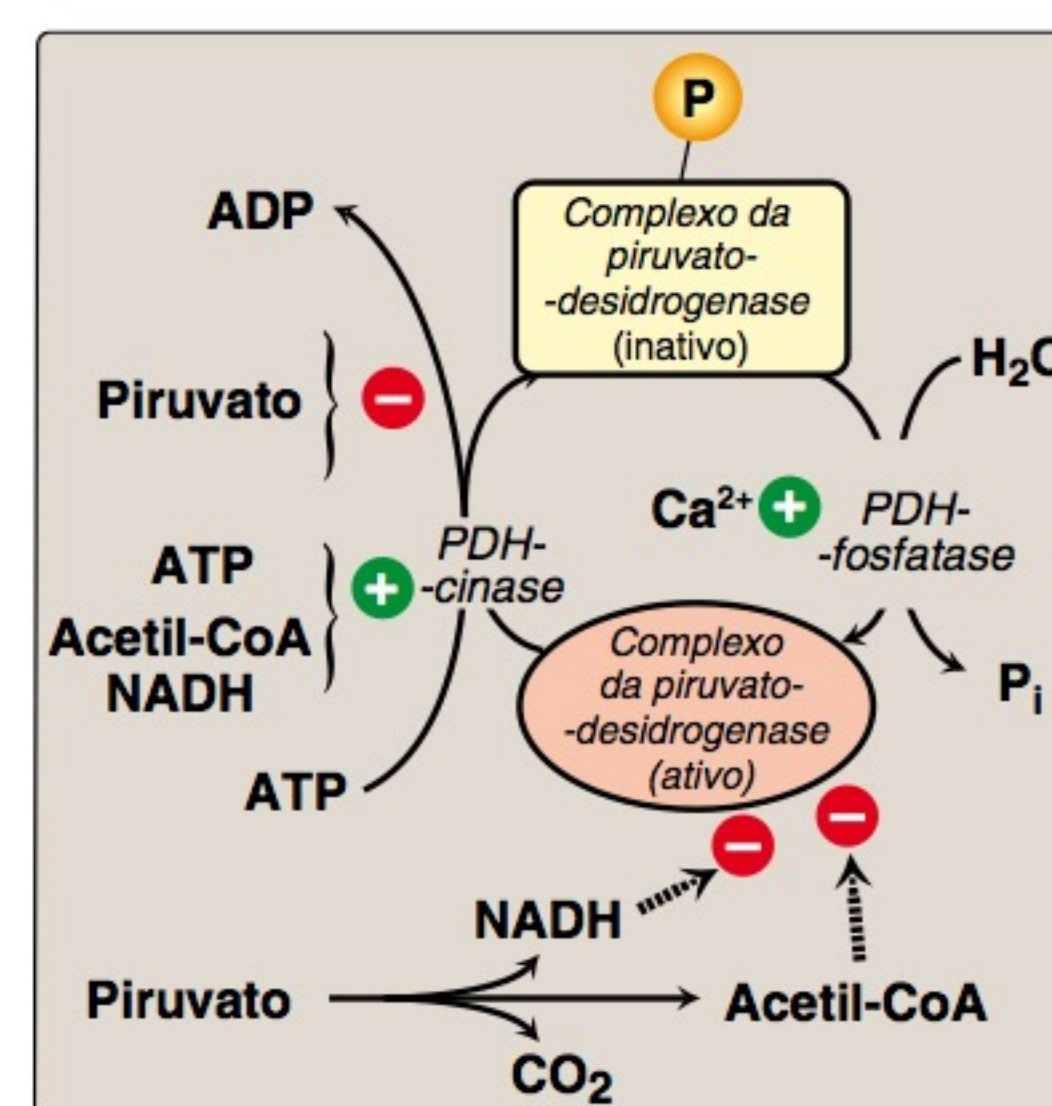


Figura 9.3

Regulação do *complexo da piruvato-desidrogenase*. (-----> denota inibição pelo produto.)

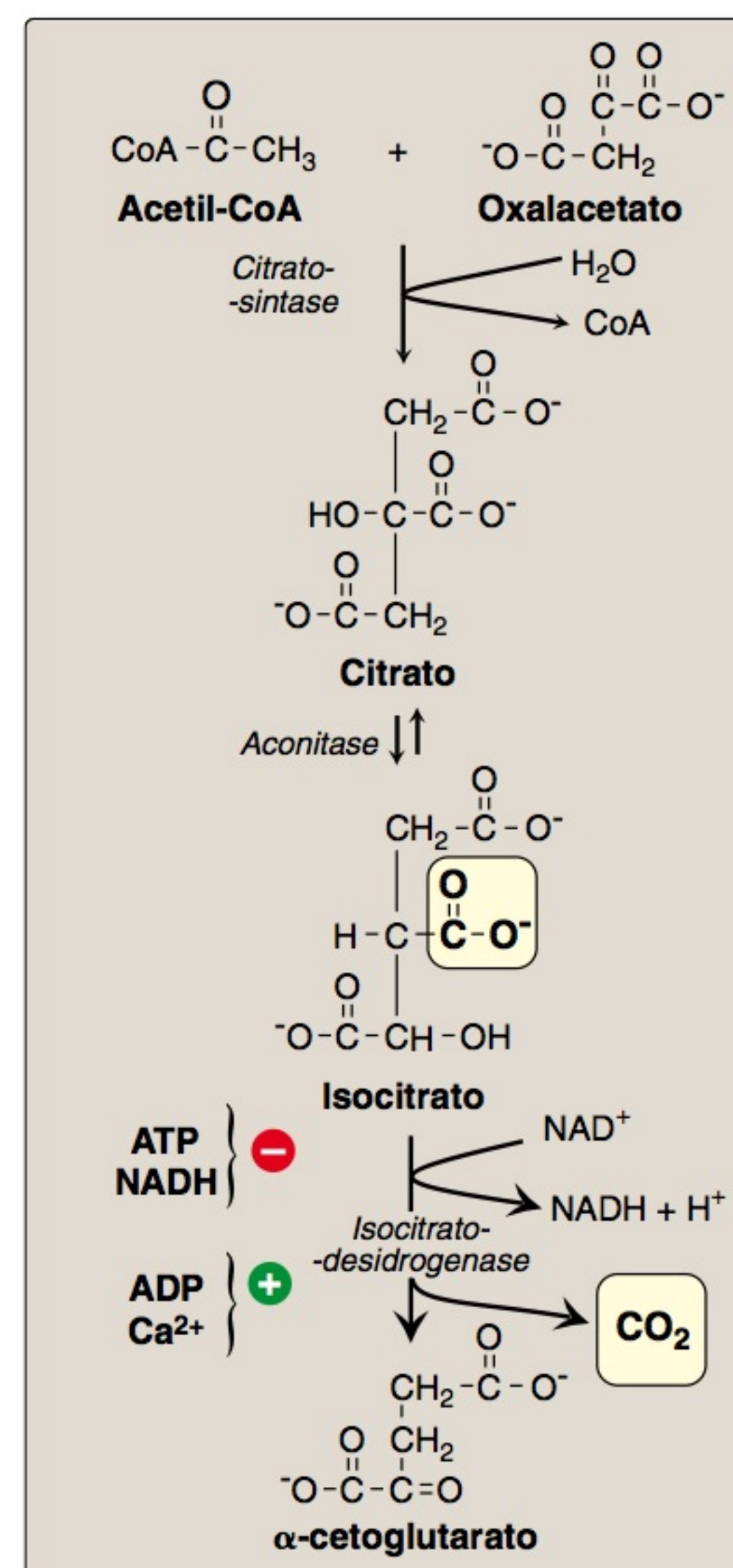
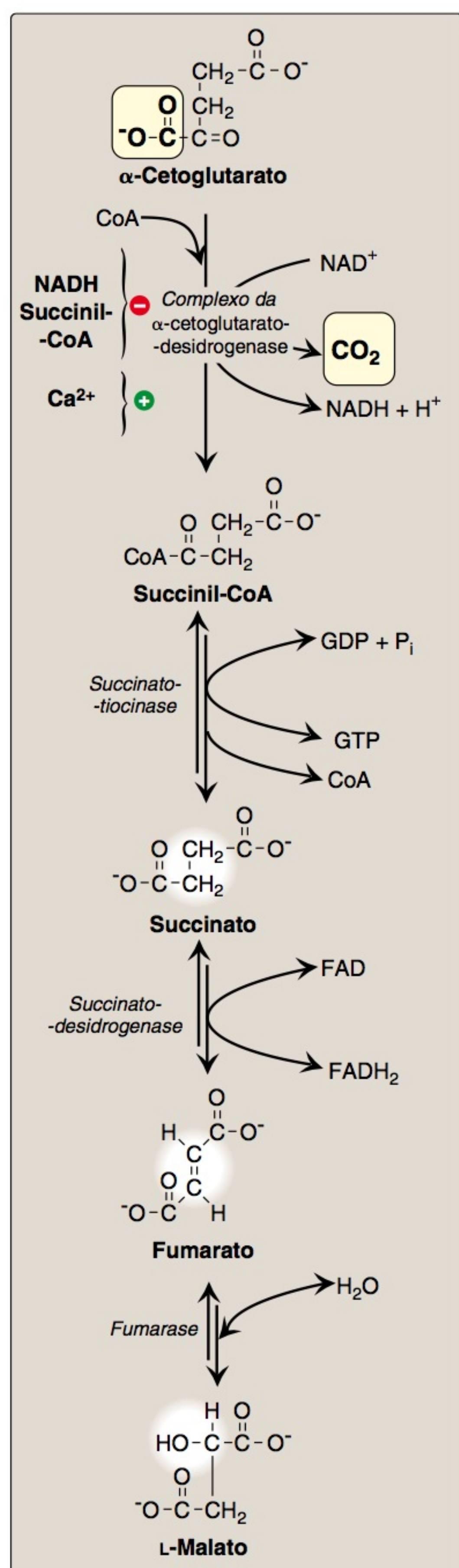


Figura 9.4

Formação de α -cetoglutarato a partir de acetil-CoA e oxalacetato.

**Figura 9.5**

Formação de malato a partir de α-cetoglutarato.

mente, o lactato) se acumula. Assim como na deficiência do *complexo da piruvato-desidrogenase*, essa condição afeta especialmente o encéfalo, causando distúrbios neurológicos e morte.

B. Síntese do citrato a partir de acetil-CoA e oxalacetato

A condensação de acetil-CoA e oxalacetato para formar citrato (um ácido tricarboxílico) é catalisada pela *citrato-sintase* (Figura 9.4). Essa condensação aldólica apresenta o equilíbrio bastante deslocado na direção da síntese de citrato. Em humanos, a *citrato-sintase* não é uma enzima alostérica. Ela é inibida por seu produto, o citrato, e a disponibilidade de substrato é outro meio de regular a atividade da *citrato-sintase*. A ligação do oxalacetato induz uma alteração conformacional na enzima, gerando um sítio de ligação para a acetil-CoA. (Nota: o citrato, além de ser um intermediário do ciclo do ácido cítrico, também serve como fonte de acetil-CoA para a síntese citosólica de ácidos graxos [veja a p. 183]. Além disso, o citrato também inibe a *fosfofrutocinase*, a enzima que determina a velocidade da glicólise [veja a p. 99], e ativa a *acetil-CoA-carboxilase* [a enzima limitante da velocidade de síntese de ácidos graxos; veja a p. 183].)

C. Isomerização do citrato

O citrato é isomerizado em isocitrato pela *aconitase*, uma proteína Fe-S (Figura 9.4). (Nota: a *aconitase* é inibida por fluoracetato, um composto utilizado como raticida. O fluoracetato é convertido em fluoracetil-CoA, que condensa com o oxalacetato para formar fluorcitrato – um potente inibidor da *aconitase* –, resultando em acúmulo de citrato.)

D. Oxidação e descarboxilação do isocitrato

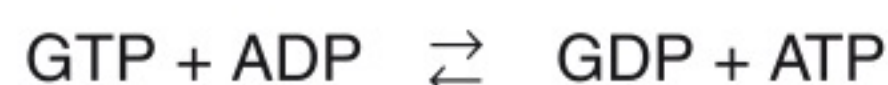
A *isocitrato-desidrogenase* catalisa a descarboxilação oxidativa irreversível do isocitrato, originando a primeira das três moléculas de NADH produzidas pelo ciclo e a primeira liberação de CO₂ (Figura 9.4). Essa é uma das etapas limitantes da velocidade do ciclo do ácido cítrico. A enzima é ativada alostericamente por ADP (um sinal de que a quantidade de energia na célula está reduzida) e por Ca²⁺; por outro lado, é inibida por ATP e NADH, cujos níveis se elevam na presença de abundantes reservas de energia na célula.

E. Descarboxilação oxidativa do α-cetoglutarato

A conversão de α-cetoglutarato em succinil-CoA é catalisada pelo *complexo da α-cetoglutarato-desidrogenase*, um agregado multimolecular que consiste em três enzimas (Figura 9.5). O mecanismo dessa descarboxilação oxidativa é muito semelhante àquele utilizado para a conversão de piruvato em acetil-CoA pelo *complexo da PDH*. A reação libera o segundo CO₂ e produz o segundo NADH do ciclo. As coenzimas necessárias são o pirofosfato de tiamina, o ácido lipoico, o FAD, o NAD⁺ e a coenzima A. Cada uma delas funciona como parte do mecanismo catalítico, de modo semelhante ao descrito no *complexo da piruvato-desidrogenase* (veja a p. 110). O equilíbrio da reação encontra-se deslocado no sentido da formação de succinil-CoA – um tioéster de alta energia, semelhante à acetil-CoA. O complexo da *α-cetoglutarato-desidrogenase* é inibido por seus produtos, NADH e succinil-CoA, além de ser ativado por Ca²⁺. Ele não é, no entanto, regulado por reações de fosforilação/desfosforilação, como descrito no *complexo da piruvato-desidrogenase*. (Nota: o α-cetoglutarato é também produzido por desaminação oxidativa [veja a p. 252] ou por transaminação, a partir do aminoácido glutamato [veja a p. 250].)

F. Clivagem da succinil-CoA

A *succinato-tiocinase* (também denominada *succinil-CoA-sintetase*, considerando a reação inversa) cliva a ligação tioéster de alta energia da succinil-CoA (Figura 9.5). A reação está acoplada à fosforilação de difosfato de guanosina (GDP), produzindo trifosfato de guanosina (GTP). O GTP e o ATP são energeticamente interconvertíveis pela reação da *nucleosídeo-difosfato-cinase*:



A produção de GTP pela *succinato-tiocinase* é outro exemplo de fosforilação no nível do substrato (veja a p. 102). (Nota: a succinil-CoA é também produzida a partir de propionil-CoA, que provém do metabolismo de ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono [veja a p. 193] e do metabolismo de diversos aminoácidos [veja as p. 265-266].)

G. Oxidação do succinato

O succinato é oxidado a fumarato pela *succinato-desidrogenase*, ao mesmo tempo em que sua coenzima FAD é reduzida a FADH_2 (Figura 9.5). A *succinato-desidrogenase* é a única enzima do ciclo do ácido cítrico que está inserida na membrana interna da mitocôndria. Assim, funciona como o Complexo II da cadeia transportadora de elétrons (veja a p. 75). (Nota: o FAD, e não o NAD^+ , é o aceptor de elétrons, pois o poder redutor do succinato não é suficiente para reduzir o NAD^+ .)

H. Hidratação do fumarato

O fumarato é hidratado, resultando em malato, em uma reação livremente reversível, catalisada pela *fumarase* (também denominada *fumarato-hidratase*, veja a Figura 9.5). (Nota: o fumarato é também produzido pelo ciclo da ureia [veja a p. 254], na síntese de purinas [veja a p. 294] e durante o catabolismo dos aminoácidos fenilalanina e tirosina [veja a p. 263].)

I. Oxidação do malato

O malato é oxidado a oxalacetato pela *malato-desidrogenase* (Figura 9.6). Essa reação produz o terceiro e último NADH do ciclo. O ΔG° da reação é positivo, mas a reação anda no sentido da formação de oxalacetato devido à reação altamente exoergônica da *citrato-sintase*. (Nota: o oxalacetato é também produzido por transaminação, a partir do aminoácido ácido aspártico [veja a p. 250].)

III. PRODUÇÃO DE ENERGIA PELO CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

Dois átomos de carbono entram no ciclo na forma de acetil-CoA e o deixam na forma de CO_2 . O ciclo não envolve consumo efetivo ou produção efetiva de oxalacetato ou de qualquer outro intermediário. Quatro pares de elétrons são transferidos durante uma volta do ciclo: três pares de elétrons reduzem três NAD^+ a NADH, e um par reduz FAD a FADH_2 . A oxidação de um NADH pela cadeia transportadora de elétrons leva à formação de aproximadamente três ATPs, enquanto a oxidação do FADH_2 gera cerca de dois ATPs (veja a p. 77). O total de ATPs produzidos na oxidação de uma acetil-CoA pode ser visto na Figura 9.7. A Figura 9.8 resume as reações do ciclo do ácido cítrico.

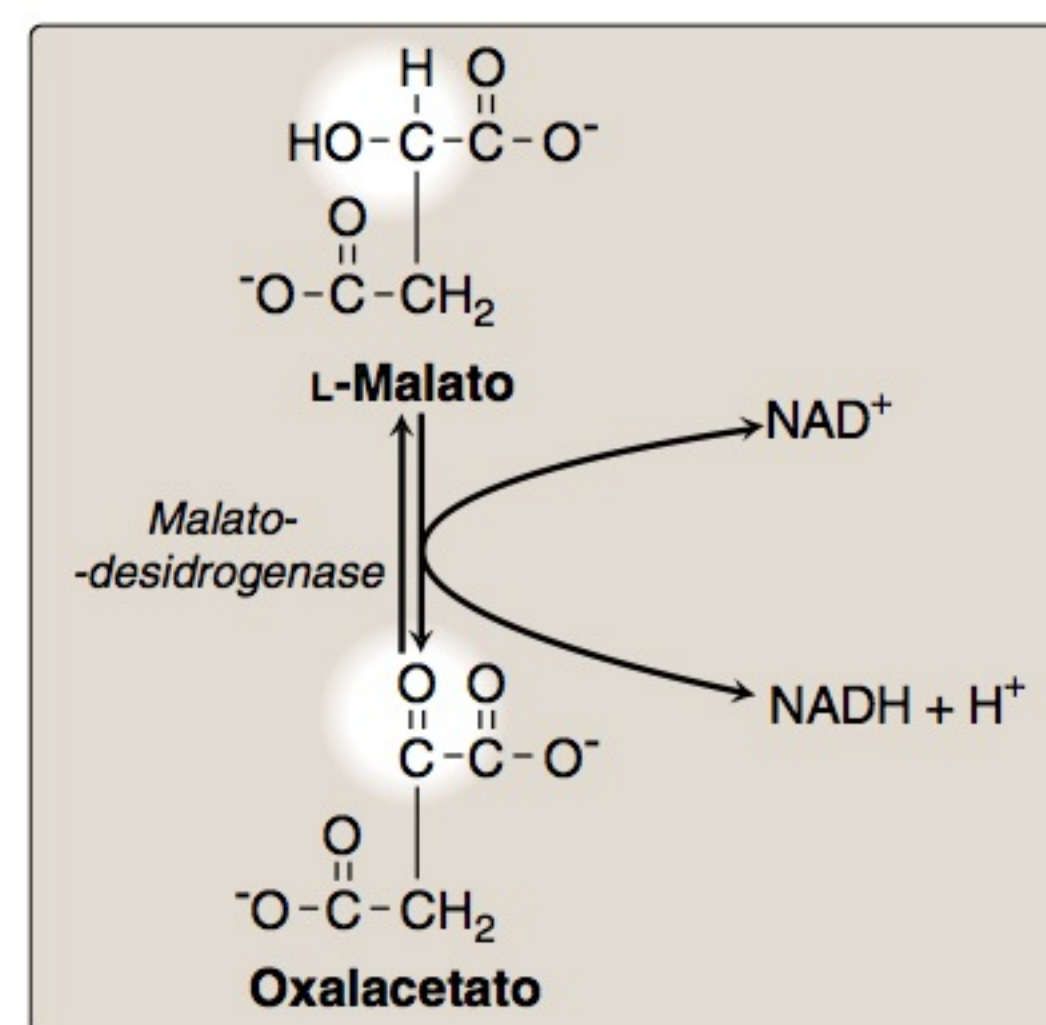


Figura 9.6

Formação de oxalacetato a partir de malato.

Reação produtora de energia	Número de ATPs produzidos
$3 \text{ NADH} \longrightarrow 3 \text{ NAD}^+$	9
$\text{FADH}_2 \longrightarrow \text{FAD}$	2
$\text{GDP} + \text{P}_i \longrightarrow \text{GTP}$	1
	12 ATPs/acetil-CoA oxidadas

Figura 9.7

Número de moléculas de ATP produzidas pela oxidação de uma molécula de acetil-CoA (utilizando os processos fosforilação no nível do substrato e fosforilação oxidativa).

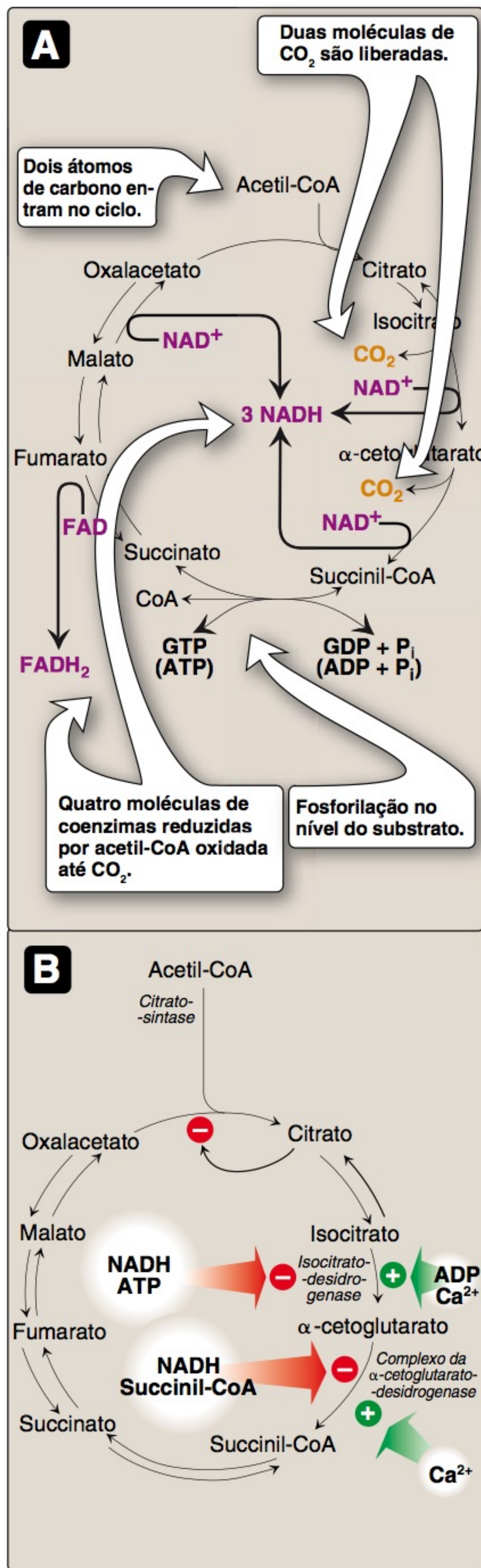


Figura 9.8

A. Produção de coenzimas reduzidas, ATP e CO_2 no ciclo do ácido cítrico. B. Inibidores e ativadores do ciclo.

IV. REGULAÇÃO DO CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

Em contraste com a glicólise, que é regulada principalmente pela *fosfofrutocinase*, o ciclo do ácido cítrico é controlado pela regulação de diversas atividades enzimáticas (Figura 9.8). As mais importantes dessas enzimas reguladas são aquelas que catalisam reações com ΔG° altamente negativo: a *citrato-sintase*, a *isocitrato-desidrogenase* e o *complexo da α -cetoglutarato-desidrogenase*. Os equivalentes redutores necessários para a fosforilação oxidativa são produzidos pelo *complexo da piruvato-desidrogenase* e pelo ciclo do ácido cítrico, e ambos os processos são estimulados em resposta a um aumento na concentração de ADP.

V. RESUMO DO CAPÍTULO

O piruvato é descarboxilado oxidativamente pelo **complexo da piruvato-desidrogenase (PDH)**, produzindo **acetil-CoA**, que é o principal combustível para o ciclo do ácido cítrico (ou ciclo dos ácidos tricarboxílicos, Figura 9.9). Esse complexo multienzimático requer cinco coenzimas: **pirofosfato de tiamina**, **ácido lipoico**, **FAD**, **NAD^+** e **coenzima A**. O complexo PDH é regulado por modificação covalente de E_1 (piruvato-desidrogenase) pelas enzimas PDH-cinase e PDH fosfatase: a fosforilação inibe a PDH. A PDH-cinase é ativada alostericamente por ATP, acetil-CoA e NADH, e inibida por piruvato; a fosfatase é ativada por Ca^{2+} . A **deficiência da piruvato-desidrogenase** é a causa bioquímica mais comum de **acidose láctica congênita**. O sistema nervoso central é especialmente afetado por essa deficiência, que é **dominante, ligada ao X**. O **envenenamento por arsênico** causa inativação do complexo PDH, por ligar-se ao ácido lipoico. O **citrato** é sintetizado a partir de **oxalacetato** e **acetil-CoA**, pela **citrato-sintase**. Essa enzima está sujeita à inibição pelo produto citrato. O citrato é isomerizado a **isocitrato** pela **aconitase**. O **isocitrato** é oxidado e descarboxilado pela **isocitrato-desidrogenase**, produzindo **α -cetoglutarato**, além de **CO_2** e **NADH**. A enzima é inibida por ATP e NADH e ativada por ADP e Ca^{2+} . O **α -cetoglutarato** é descarboxilado oxidativamente pelo **complexo da α -cetoglutarato-desidrogenase**, resultando em **succinil-CoA**, **CO_2** e **NADH**. A enzima é muito semelhante à piruvato-desidrogenase e utiliza as mesmas coenzimas. O complexo da α -cetoglutarato-desidrogenase é ativado por cálcio e inibido por NADH e succinil-CoA, mas não é regulado covalentemente. A **succinil-CoA** é clivada pela **succinato-tiocinase** (também denominada **succinil-CoA-sintetase**), produzindo **succinato** e **GTP**. Esse é um exemplo de **fosforilação no nível do substrato**. O **succinato** é oxidado a **fumarato** pela **succinato-desidrogenase**, produzindo **FADH_2** . O **fumarato** é hidratado a **malato** pela **fumarase** (fumarato-hidratase), e o **malato** é oxidado a **oxalacetato** pela **malato-desidrogenase**, produzindo **NADH**. **Três NADHs**, um **FADH_2** e um **GTP** (cujo fosfato terminal pode ser transferido ao ADP pela nucleosídeo-difosfato-cinase, produzindo ATP) são produzidos por uma volta do ciclo do ácido cítrico. A produção de acetil-CoA pela oxidação do piruvato via complexo PDH também produz um NADH. A oxidação dos NADHs e do FADH_2 pela cadeia transportadora de elétrons produz cerca de 14 ATPs. Um ATP adicional (GTP) provém da fosforilação no nível do substrato, no ciclo do ácido cítrico. Portanto, um total de 15 ATPs são produzidos pela oxidação mitocondrial completa de piruvato a CO_2 .

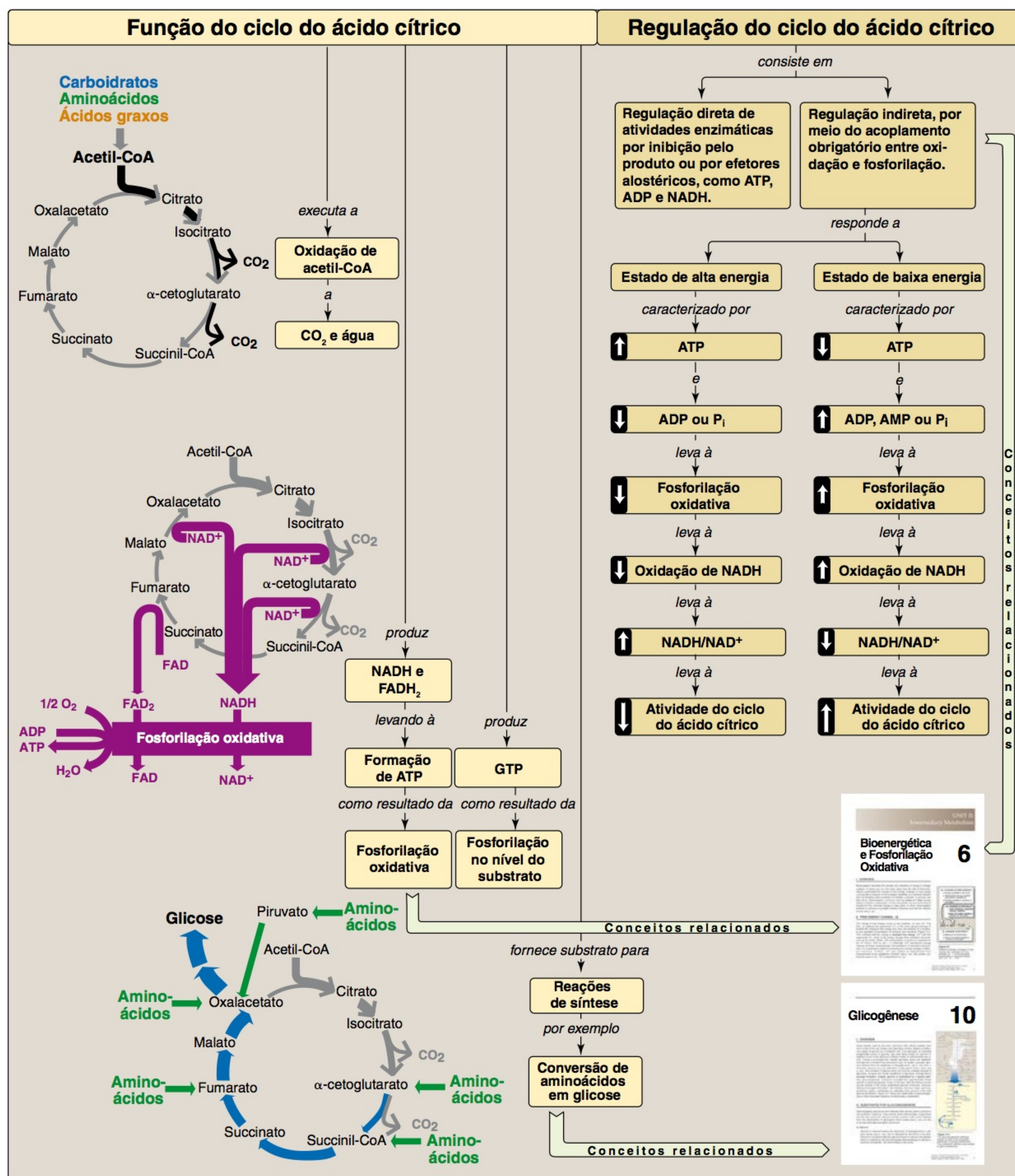


Figura 9.9

Mapa de conceitos-chave para o ciclo do ácido cítrico.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta:

9.1. A conversão de piruvato em acetil-CoA e CO₂:

- A. É reversível.
- B. Envolve a participação de ácido lipoico.
- C. É ativada quando a piruvato-desidrogenase (PDH, E₁) do complexo da piruvato desidrogenase é fosforilada pela PDH-cinase na presença de ATP.
- D. Ocorre no citosol.
- E. Depende da coenzima biotina.

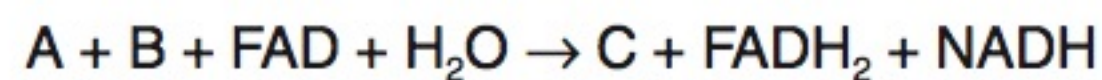
Resposta correta = B. O ácido lipoico é um aceptor intermediário do grupo acetila, formado na reação. O complexo da piruvato-desidrogenase catalisa uma reação irreversível, que é inibida quando a enzima PDH (E₁) está fosforilada. O complexo enzimático localiza-se na matriz mitocondrial. A biotina é utilizada pelas carboxilases.

9.2. Qual das seguintes condições diminui a oxidação de acetil-CoA pelo ciclo do ácido cítrico?

- A. Uma baixa razão ATP/ADP.
- B. Baixas concentrações de NADH, devido à rápida oxidação a NAD⁺ pela cadeia respiratória.
- C. Uma baixa razão NAD⁺/NADH.
- D. Alta concentração de AMP.
- E. Uma baixa razão GTP/GDP.

Resposta correta = C. Uma baixa razão NAD⁺/NADH limita a velocidade das desidrogenases que requerem NAD⁺. Razões ATP/ADP e GTP/GDP baixas estimulam o ciclo. O AMP não afeta diretamente o ciclo.

9.3. A reação a seguir é a soma de três passos do ciclo do ácido cítrico:



Resposta correta = B. Succinato + NAD⁺ + FAD → oxalacetato + FADH₂ + NADH.

Entre as respostas abaixo, escolha a que corresponde aos compostos "A", "B" e "C" na equação.

Reatante A	Reatante B	Reatante C
A. Succinil-CoA	GDP	Succinato
B. Succinato	NAD ⁺	Oxalacetato
C. Fumarato	NAD ⁺	Oxalacetato
D. Succinato	NAD ⁺	Malato
E. Fumarato	GTP	Malato

9.4. Um bebê do sexo masculino, de um mês de idade, apresentou anormalidades no sistema nervoso e acidose láctica. Ensaios enzimáticos para a atividade da piruvato desidrogenase (PDH), em extratos de cultura de fibroblastos da pele, mostraram 5% da atividade normal, com baixa concentração (1 x 10⁻⁴ mM) de pirofosfato de tiamina (TPP), mas 80% da atividade normal quando o ensaio continha uma alta (0,4 mM) concentração de TPP. Qual das seguintes afirmativas, com relação a esse paciente, está mais correta?

- A. Níveis elevados de lactato e piruvato no sangue predizem com confiabilidade a presença de deficiência de PDH.
- B. O paciente provavelmente apresentará problemas na degradação de ácidos graxos.
- C. Espera-se que uma dieta consistindo em alta ingestão de carboidratos seja benéfica para esse paciente.
- D. A concentração de alanina no sangue provavelmente está abaixo do normal.
- E. A administração de tiamina provavelmente reduzirá a concentração sérica de lactato e levará a uma melhora dos sintomas clínicos.

Resposta correta = E. O paciente parece apresentar deficiência de PDH que responde à tiamina. A enzima não é capaz de ligar-se ao pirofosfato de tiamina em baixas concentrações, mas apresenta atividade significativa em uma alta concentração da coenzima. Essa mutação, que afeta o K_m da enzima pela coenzima, está presente em alguns, mas não em todos os casos de deficiência de PDH. Todos os erros inatos da PDH estão associados com níveis elevados de lactato, piruvato e alanina (o produto da transaminação do piruvato). Os pacientes rotineiramente apresentam defeitos neuroanatômicos, retardo no desenvolvimento e, com frequência, morte precoce. Níveis elevados de piruvato e lactato são também observados na deficiência da piruvato-carboxilase, outro defeito raro do metabolismo do piruvato. Uma vez que a PDH é parte integral do metabolismo dos carboidratos, uma dieta com baixo conteúdo de carboidratos poderia reduzir os efeitos da deficiência enzimática. Em contraste, a degradação dos ácidos graxos ocorre via conversão a acetil-CoA por β-oxidação, processo que não envolve piruvato como intermediário. Desse modo, o metabolismo dos ácidos graxos não é prejudicado por essa deficiência enzimática.

10

A via da gliconeogênese mostrada como parte das vias essenciais do metabolismo energético. As reações numeradas são exclusivas da gliconeogênese (veja a Figura 8.2, p. 92, para um mapa mais detalhado do metabolismo).

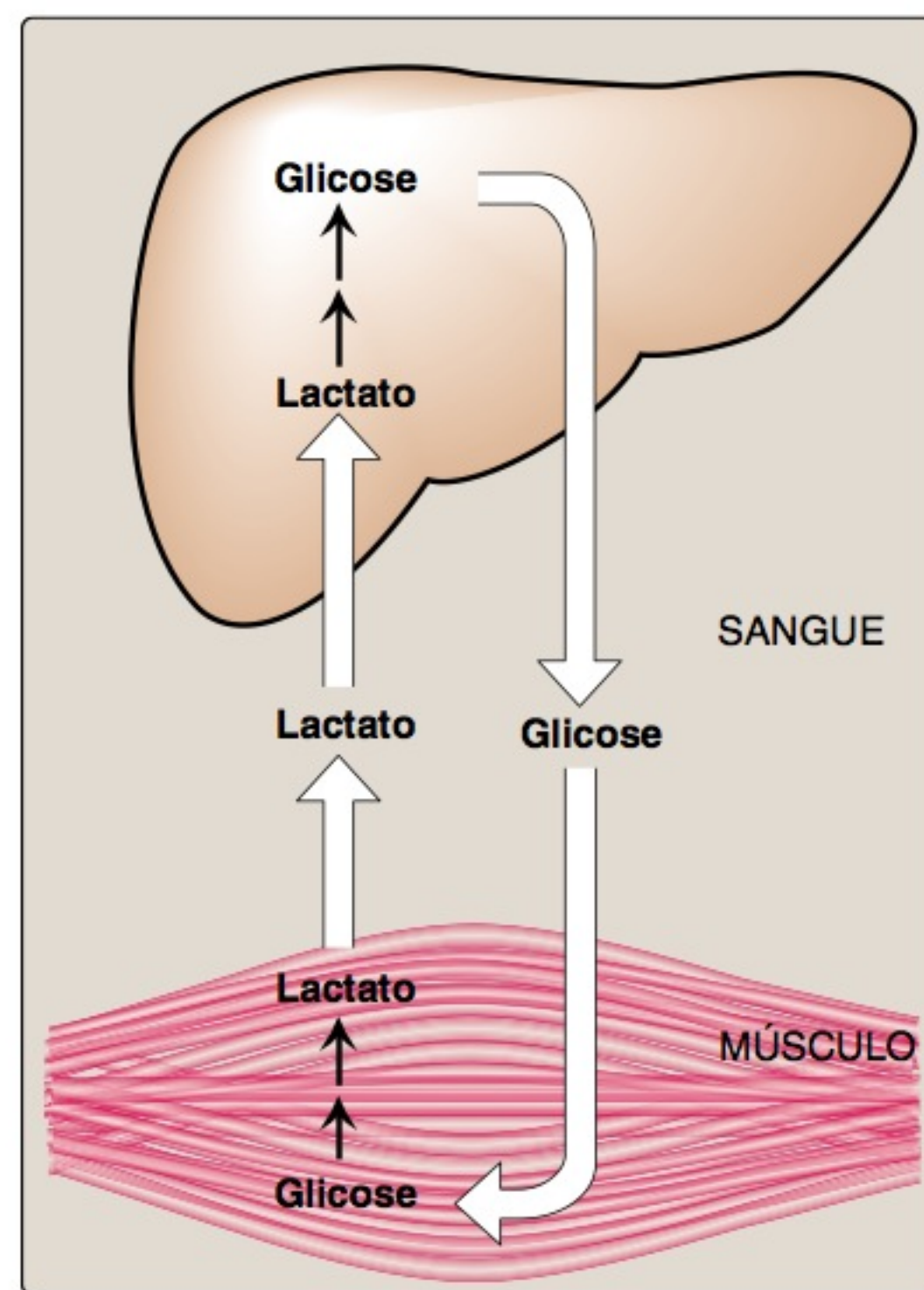


Figura 10.2
O ciclo de Cori.

rilado pela *glicerol-cinase*, resultando em glicerol-fosfato, que é oxidado pela *glicerol-fosfato-desidrogenase*, produzindo di-hidroxiacetona-fosfato – um intermediário da glicólise. (Nota: os adipócitos não podem fosforilar o glicerol, pois não apresentam a *glicerol-cinase*.)

B. Lactato

O lactato é liberado no sangue pelo músculo esquelético em exercício e pelas células que não possuem mitocôndrias, como os eritrócitos. No ciclo de Cori, a glicose oriunda do sangue é convertida pelo músculo em lactato, que difunde para o sangue. Esse lactato é captado pelo fígado e reconvertido em glicose, que é liberada de volta para a circulação (Figura 10.2).

C. Aminoácidos

Os aminoácidos obtidos pela hidrólise de proteínas teciduais são as principais fontes de glicose no jejum. Os α -cetoácidos, como o α -cetoglutarato, são produzidos pelo metabolismo de aminoácidos glicogênicos (veja a p. 261). Essas substâncias podem entrar no ciclo do ácido cítrico e produzir oxalacetato (OAA) – precursor direto do fosfoenolpiruvato (PEP). (Nota: a acetil-coenzima A [CoA] e os compostos que a produzem [por exemplo, acetoacetato e aminoácidos como lisina e leucina] não podem levar à síntese líquida de glicose. Isso se deve à natureza irreversível da reação da *piruvato-desidrogenase*, que converte o piruvato em acetil-CoA [veja a p. 109]. Esses compostos originam, em vez da glicose, os corpos cetônicos [veja a p. 195] e são, portanto, denominados cetogênicos.)

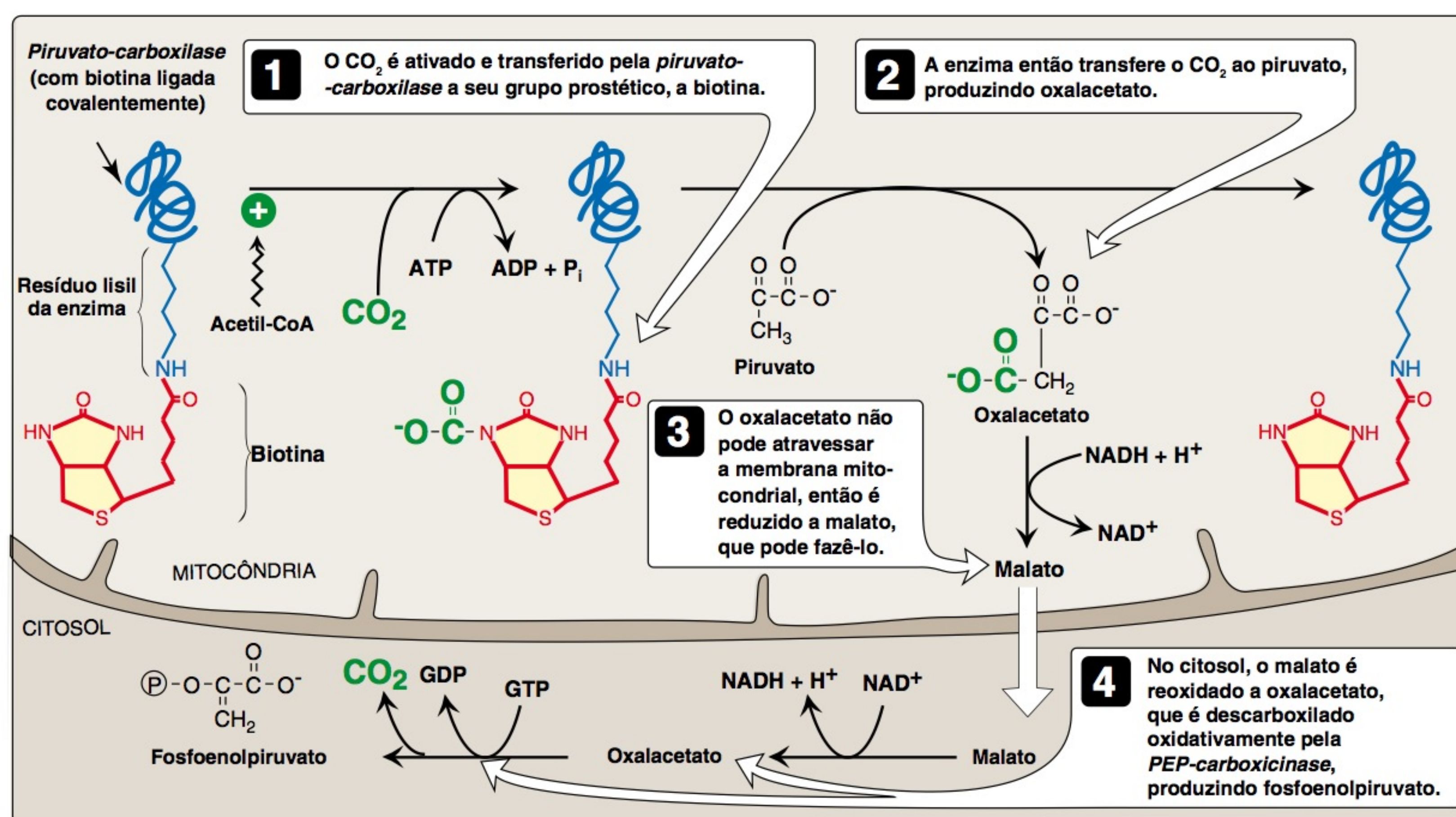
III. REAÇÕES EXCLUSIVAS DA GLICONEOGÊNESE

Sete reações glicolíticas são reversíveis, sendo utilizadas na síntese de glicose a partir de lactato ou piruvato. Três das reações glicolíticas, no entanto, são irreversíveis e devem ser contornadas pela utilização de quatro reações alternativas, que favorecem energeticamente a síntese de glicose. Essas reações exclusivas da gliconeogênese são descritas a seguir.

A. Carboxilação do piruvato

O primeiro “bloqueio na via” que deve ser contornado, na síntese de glicose a partir do piruvato, é a conversão irreversível de PEP em piruvato, catalisada pela *piruvato-cinase* na glicólise. Na gliconeogênese, o piruvato é primeiramente carboxilado pela *piruvato-carboxilase*, produzindo OAA, que é então convertido em PEP pela ação da *PEP-carboxicinase* (Figura 10.3).

1. **A biotina é uma coenzima.** A *piruvato-carboxilase* requer, para sua ação, a biotina (veja a p. 381), que se liga covalentemente à proteína enzimática pelo grupo ϵ -amino de um resíduo de lisina (Figura 10.3). A hidrólise de um ATP impulsiona a formação do intermediário enzima-biotina- CO_2 . Esse complexo de alta energia subsequentemente carboxila o piruvato, formando OAA. (Nota: essa reação ocorre na mitocôndria de células hepáticas e renais e tem dois propósitos: fornecer um substrato importante para a gliconeogênese e fornecer OAA, para repor os intermediários do ciclo do ácido cítrico, pois esses podem sofrer depleção, dependendo das necessidades de síntese da célula. As células musculares também contêm *piruvato-carboxilase*, mas utilizam o OAA apenas para esse último propósito – elas não sintetizam glicose.)


Figura 10.3

Ativação e transferência de CO_2 para o piruvato, seguindo-se o transporte do oxalacetato para o citosol e subsequente descarboxilação. Alternativamente, o OAA pode ser convertido em PEP, que é transportado para fora da mitocôndria.



A *piruvato-carboxilase* é uma entre diversas carboxilases que utilizam a biotina. Outras dessas enzimas incluem a *acetil-CoA-carboxilase* (p. 183), a *propionil-CoA-carboxilase* (p. 194) e a *metil-crotonil-CoA-carboxilase* (p. 266).

2. **Regulação alostérica.** A *piruvato-carboxilase* é ativada alostericamente pela acetil-CoA. Níveis elevados de acetil-CoA na mitocôndria sinalizam um estado metabólico em que é necessária uma síntese aumentada de OAA. Por exemplo, isso pode ocorrer durante o jejum, quando o OAA é utilizado para a síntese de glicose pela gliconeogênese no fígado e nos rins. Por outro lado, quando os níveis de acetil-CoA estiverem baixos, a *piruvato-carboxilase* encontra-se bastante inativada, e o piruvato é, em sua maior parte, oxidado pelo *complexo da piruvato-desidrogenase*, produzindo acetil-CoA, que pode ser posteriormente oxidada pelo ciclo do ácido cítrico (veja a p. 109).

B. O transporte do oxalacetato para o citosol

O OAA deve ser convertido em PEP para que a gliconeogênese possa continuar. Em humanos, as enzimas que catalisam essa conversão são encontradas tanto na mitocôndria quanto no citosol. O PEP produzido na mitocôndria é transportado para o citosol por um transportador específico, enquanto aquele produzido no citosol requer o transporte do OAA da mitocôndria para o citosol. O OAA, entretanto, é incapaz de atravessar diretamente a membrana mitocondrial interna; ele deve ser primeiramente

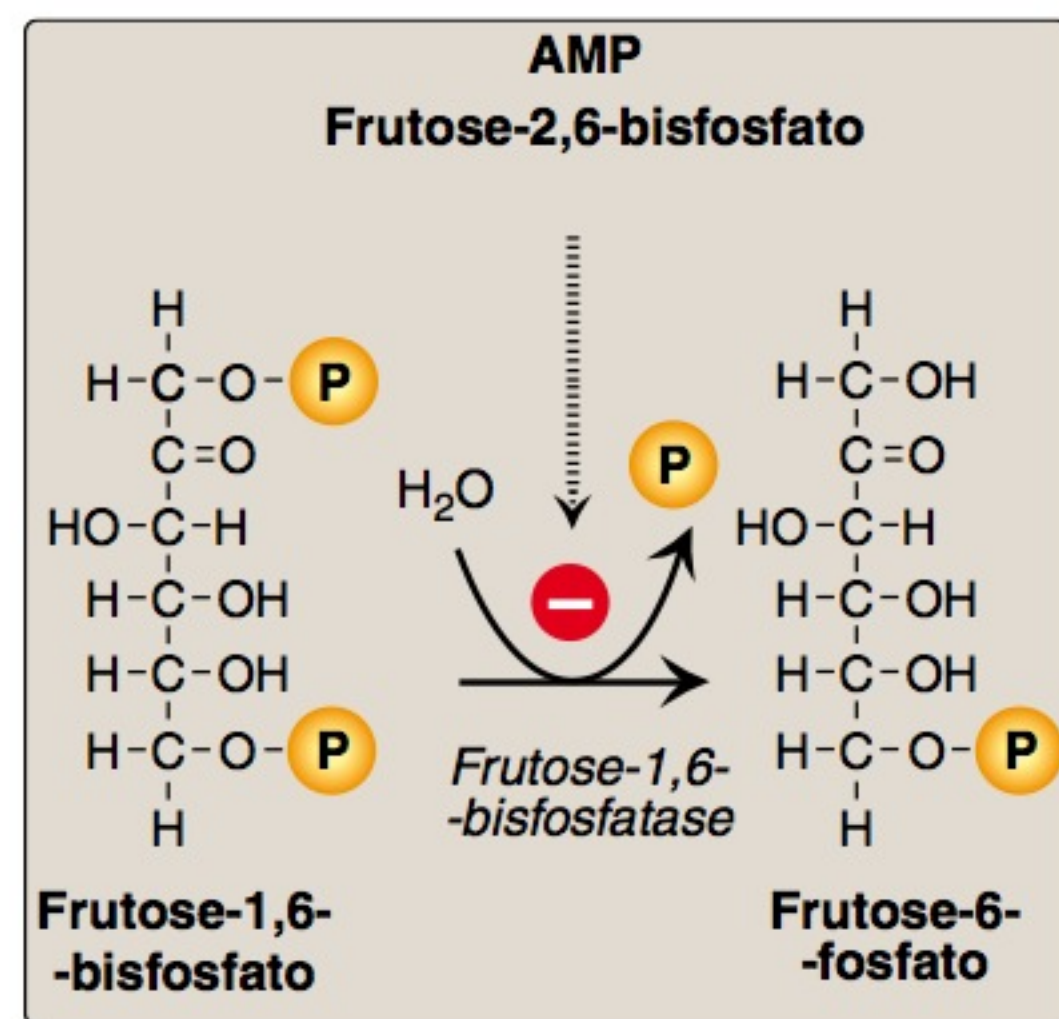


Figura 10.4

Desfosforilação da frutose-1,6-bisfosfato.

te reduzido a malato pela *malato-desidrogenase* mitocondrial. O malato pode ser transportado da mitocôndria para o citosol, onde é reoxidado a oxalacetato pela *malato-desidrogenase* citosólica, ao mesmo tempo em que o NAD^+ é reduzido (Figura 10.3). O NADH produzido é utilizado na redução do 1,3-BPG a gliceraldeído 3-fosfato (veja a p. 101), um passo comum à glicólise e à gliconeogênese.

C. Descarboxilação do oxalacetato citosólico

O oxalacetato é descarboxilado e fosforilado no citosol pela *PEP-carboxicinas* (também chamada *PEPCK*), produzindo PEP. A reação utiliza energia da hidrólise de trifosfato de guanosina (GTP; veja a Figura 10.3). As ações combinadas da *piruvato-carboxilase* e da *PEP-carboxicinas* fornecem uma via energeticamente favorável do piruvato ao PEP. O PEP sofre então as reações da glicólise, andando no sentido inverso, até chegar à frutose-1,6-bisfosfato.

O pareamento da carboxilação com a descarboxilação, como ocorre na gliconeogênese, possibilita reações que seriam, de outra forma, energeticamente desfavoráveis. Uma estratégia semelhante é utilizada na síntese dos ácidos graxos (veja as p. 183-184).

D. Desfosforilação da frutose-1,6-bisfosfato

A hidrólise da frutose-1,6-bisfosfato pela *frutose-1,6-bisfosfatase* contorna a reação irreversível da *fosfofrutocinase-1* e fornece uma via energeticamente favorável para a formação de frutose-6-fosfato (Figura 10.4). Essa reação é um importante sítio regulatório da gliconeogênese.

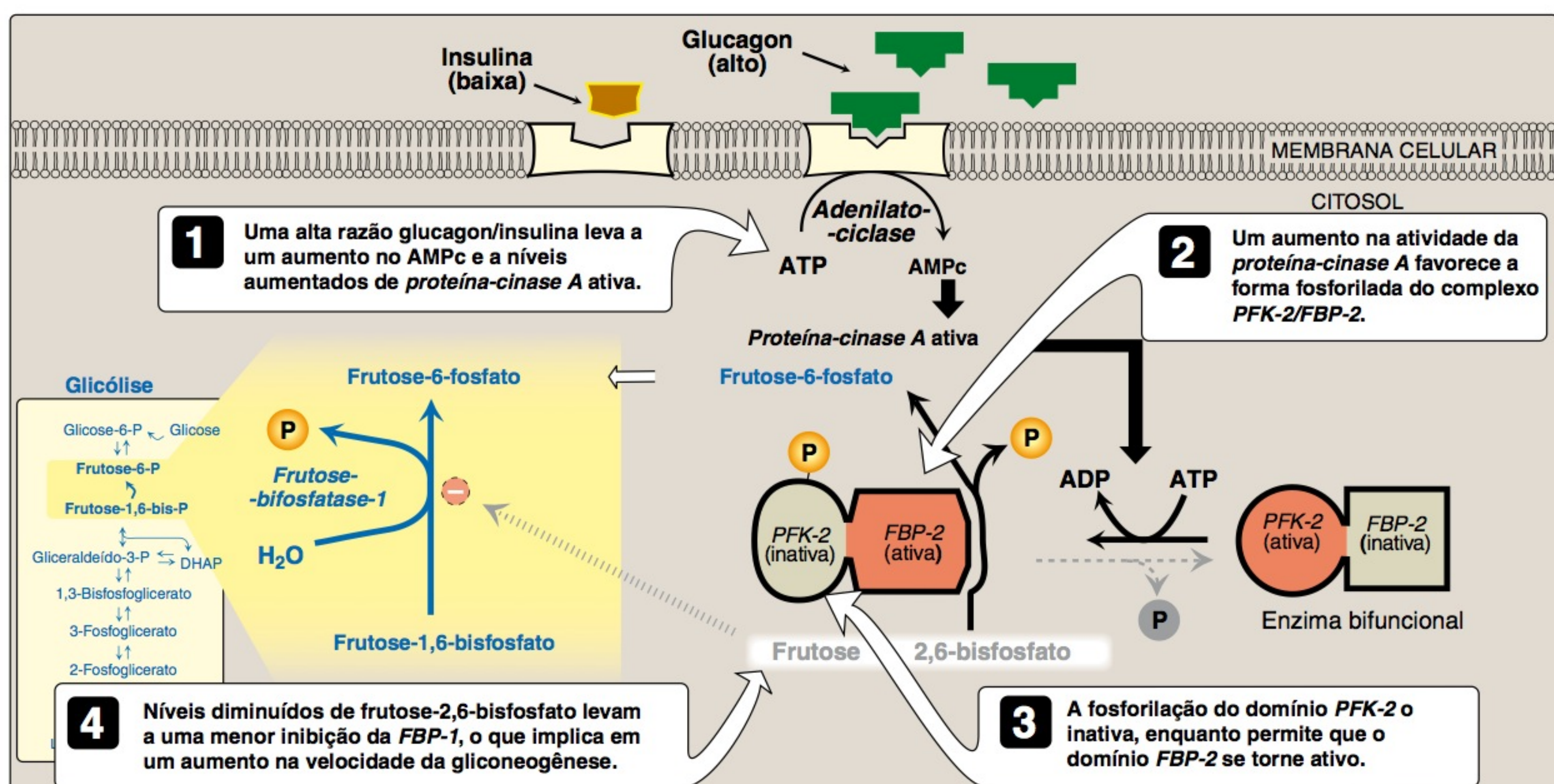


Figura 10.5

Efeito de níveis elevados de glucagon sobre a concentração intracelular de frutose-2,6-bisfosfato no fígado. *PFK-2* = *fosfofrutocinase-2*; *FBP-2* = *frutose-bisfosfato-fosfatase-2*.

1. **Regulação pelos níveis energéticos dentro da célula.** A *frutose-1,6-bisfosfatase* é inibida por níveis elevados de monofosfato de adenosina (AMP), que sinalizam um estado de “baixa energia” na célula. Altos níveis de trifosfato de adenosina (ATP) e baixas concentrações de AMP, por sua vez, estimulam a gliconeogênese, uma via que requer energia.
2. **Regulação pela frutose-2,6-bisfosfato.** A *frutose-1,6-bisfosfatase*, encontrada no fígado e nos rins, é inibida por frutose-2,6-bisfosfato, um efetor alostérico cuja concentração é influenciada pelos níveis de glucagon circulante (Figura 10.5). (Nota: os sinais que inibem [baixa energia, altos níveis de frutose-2,6-bisfosfato] ou que favorecem [alta energia, baixos níveis de frutose-2,6-bisfosfato] a gliconeogênese apresentam efeito oposto sobre a glicólise, permitindo assim o controle recíproco da síntese e da oxidação da glicose – veja a p. 100).

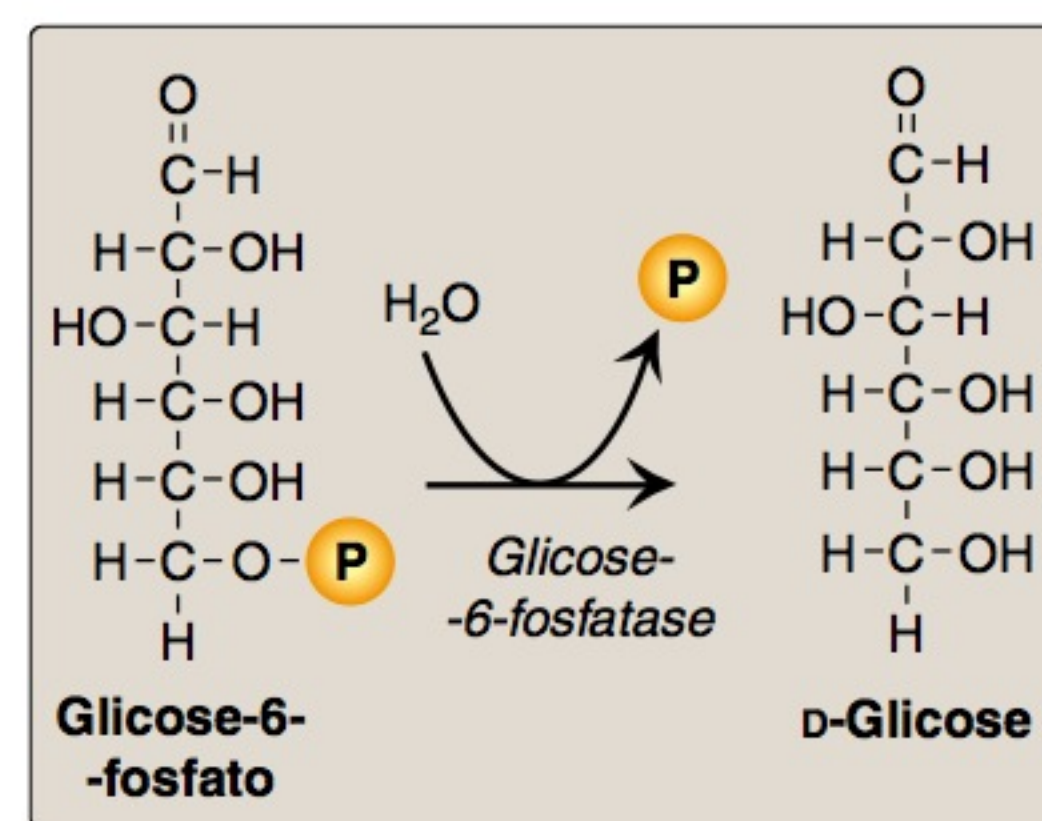


Figura 10.6

A desfosforilação da glicose-6-fosfato permite a liberação de glicose livre, do fígado e dos rins, para o sangue.

E. Desfosforilação da glicose-6-fosfato

A hidrólise da glicose-6-fosfato pela *glicose-6-fosfatase* contorna a reação irreversível da *hexocinase* e fornece uma via energeticamente favorável para a formação de glicose livre (Figura 10.6). O fígado e o rim são os únicos órgãos que liberam glicose livre a partir da glicose-6-fosfato. Esse processo, na verdade, requer duas proteínas: a *glicose-6-fosfato-translocase*, que transporta a glicose-6-fosfato através da membrana do retículo endoplasmático (RE), e a enzima do RE, a *glicose-6-fosfatase* (encontrada apenas em células gliconeogênicas), que remove o fosfato, produzindo glicose livre (Figura 10.6). (Nota: essas enzimas são também necessárias para o último passo da glicogenólise [veja a p. 130]. A doença do armazenamento do glicogênio do tipo Ia [veja a p. 130] é resultado de uma deficiência herdada na *glicose-6-fosfatase* e caracteriza-se por grave hipoglicemia de jejum, pois a glicose livre não pode ser produzida, nem pela gliconeogênese, nem pela glicogenólise.) Transportadores específicos são responsáveis pela liberação de glicose livre e de fosfato de volta ao citosol e de glicose para o sangue. (Nota: os músculos não possuem *glicose-6-fosfatase* e, portanto, o glicogênio muscular não pode ser utilizado para a manutenção dos níveis de glicose no sangue.)

F. Resumo das reações da glicólise e da gliconeogênese

Das 11 reações necessárias para converter piruvato em glicose livre, sete são reversíveis, catalisadas por enzimas glicolíticas (Figura 10.7). As reações irreversíveis da glicólise, catalisadas pela *hexocinase*, pela *fosfofrutocinase-1* e pela *piruvato-cinase* são contornadas pela ação das enzimas *glicose-6-fosfatase*, *frutose-1,6-bisfosfatase* e *piruvato-carboxilase/PEP-carboxicinas*. Na gliconeogênese, o equilíbrio das sete reações reversíveis da glicólise é deslocado para favorecer a síntese de glicose como resultado da formação essencialmente irreversível de PEP, frutose-6-fosfato e glicose, catalisada pelas enzimas gliconeogênicas. (Nota: a estequiometria da gliconeogênese a partir do piruvato associa a clivagem de seis ligações de fosfato de alta energia e a oxidação de dois NADHs com a formação de cada molécula de glicose [Figura 10.7].)

IV. REGULAÇÃO DA GLICONEOGÊNESE

A regulação momento a momento da gliconeogênese é determinada principalmente pelos níveis circulantes de glucagon e pela disponibilidade de substratos gliconeogênicos. Além disso, lentas mudanças adaptativas na atividade enzimática resultam de alterações na velocidade de síntese ou degradação

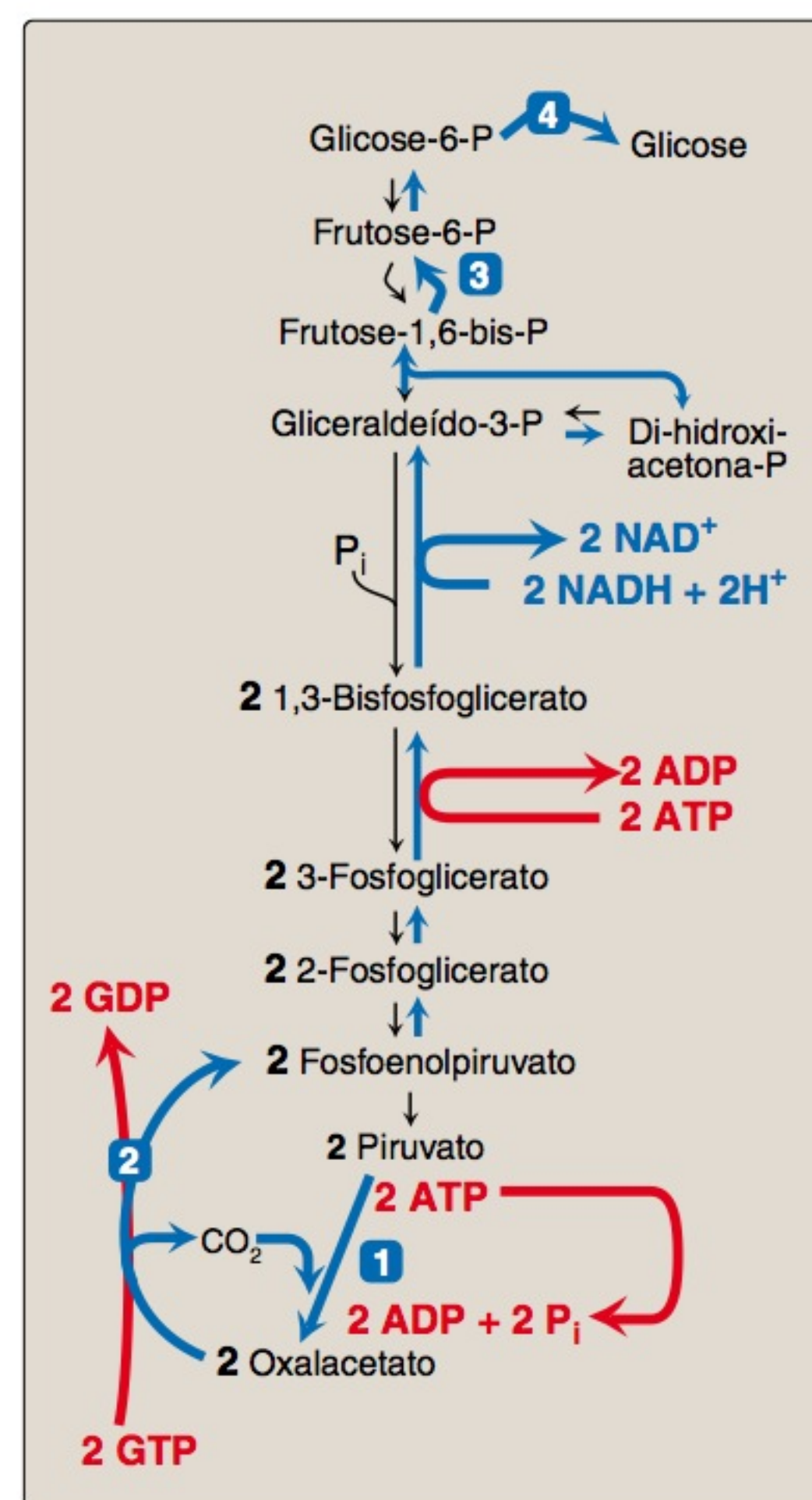
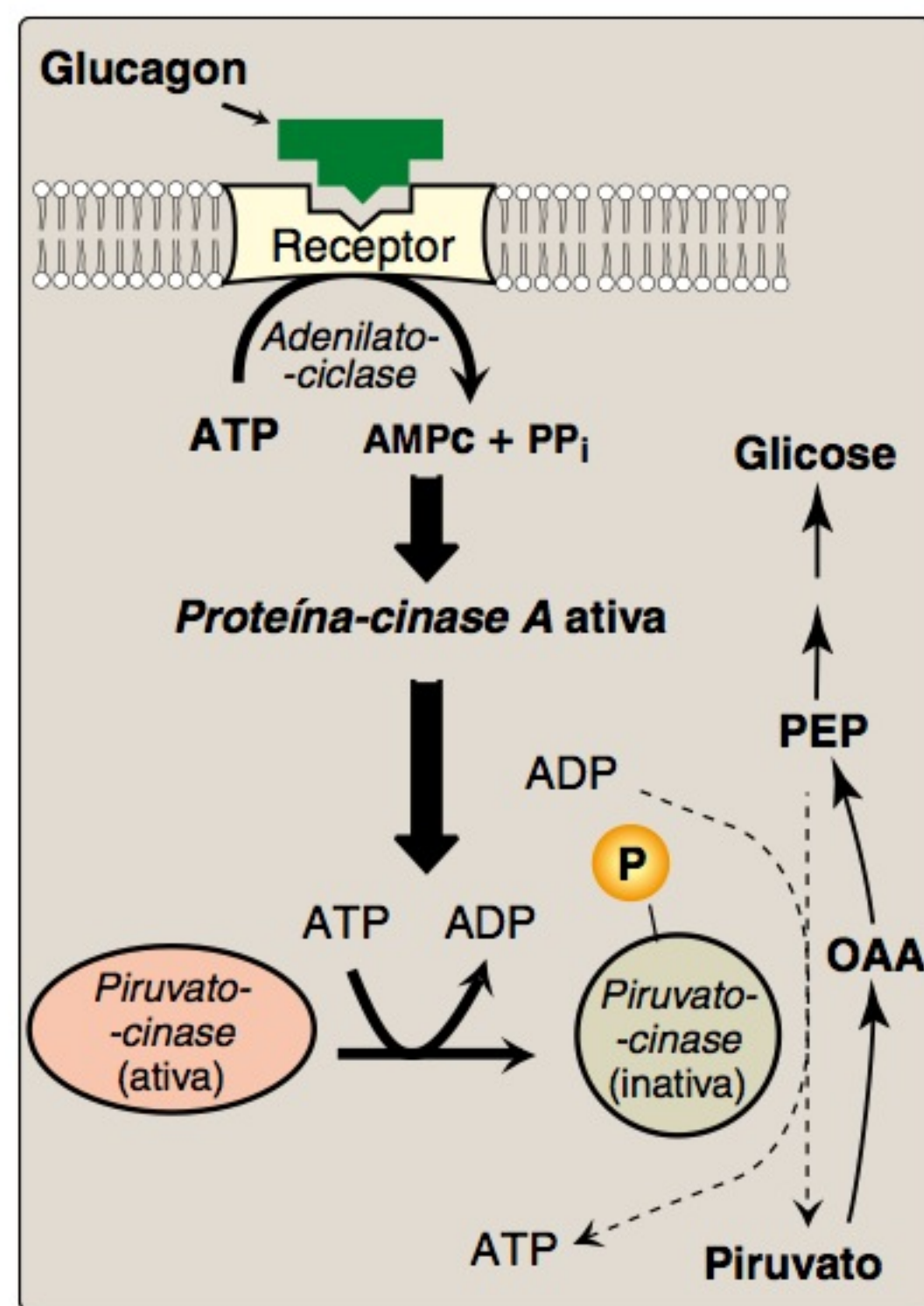


Figura 10.7

Resumo das reações da glicólise e da gliconeogênese, mostrando as necessidades energéticas da gliconeogênese.

**Figura 10.8**

A modificação covalente da *piruvato-quinase* resulta em inativação dessa enzima. OAA = oxalacetato. (Nota: apenas a isoforma hepática está sujeita à regulação covalente.)

de enzimas, ou em ambas. (Nota: o controle hormonal do sistema glicorregulador é apresentado no Capítulo 23.)

A. Glucagon

Esse hormônio, produzido pelas células α das ilhotas pancreáticas (veja a p. 311), estimula a gliconeogênese por meio de três mecanismos.

- 1. Alterações em efetores alostéricos.** O glucagon diminui os níveis de frutose-2,6-bisfosfato, resultando na ativação da *frutose-1,6-bisfosfatase* e na inibição da *fosfofrutocinase-1*, favorecendo a gliconeogênese em detrimento da glicólise (Figura 10.5). (Nota: veja a p. 100 para o papel da frutose-2,6-bisfosfato na regulação da glicólise.)
- 2. Modificação da atividade enzimática por ligação covalente.** O glucagon liga-se ao seu receptor, o qual é acoplado à proteína G (veja p. 95), e, via aumento nos níveis de AMP cíclico (AMPc) e na atividade da *proteína-quinase dependente de AMPc*, estimula a conversão da *piruvato-quinase* hepática em sua forma inativa (fosforilada). Isso diminui a conversão do PEP em piruvato, tendo o efeito de redirecioná-lo para a síntese de glicose (Figura 10.8).
- 3. Indução da síntese de enzimas.** O glucagon aumenta a transcrição do gene da *PEP-carboxicinas*, aumentando, assim, a disponibilidade dessa atividade enzimática à medida que os níveis de seu substrato aumentam com o jejum. (Nota: a insulina causa uma diminuição na transcrição do RNAm para essa enzima.)

B. Disponibilidade de substrato

A disponibilidade de precursores gliconeogênicos, especialmente de aminoácidos glicogênicos, influencia de modo considerável a velocidade da síntese hepática de glicose. Níveis diminuídos de insulina favorecem a mobilização de aminoácidos a partir das proteínas musculares e fornecem esqueletos carbonados para a gliconeogênese. Além disso, ATP e NADH, coenzimas/cosubstratos necessários para a gliconeogênese, são fornecidos principalmente pelo catabolismo de aminoácidos.

C. Ativação alostérica pela acetil-CoA

Durante o jejum, ocorre a ativação alostérica da *piruvato-carboxilase* hepática pela acetil-CoA. Como resultado da lipólise excessiva no tecido adiposo, o fígado é inundado com ácidos graxos (veja a p. 330). A velocidade de formação de acetil-CoA pela β -oxidação desses ácidos graxos excede a capacidade do fígado de oxidá-la a CO_2 e H_2O . Como resultado, a acetil-CoA se acumula, levando à ativação da *piruvato-carboxilase*. (Nota: a acetil-CoA inibe a *piruvato-desidrogenase* por meio da ativação da *PDH-cinase* – veja a p. 111. Desse modo, esse único composto pode redirecionar o piruvato no sentido da gliconeogênese, removendo-o da oxidação no ciclo do ácido cítrico.)

D. Inibição alostérica pelo AMP

A *frutose-1,6-bisfosfatase* é inibida por AMP – um composto que ativa a *fosfofrutocinase-1*. Isso resulta na regulação recíproca da glicólise e da gliconeogênese, como visto anteriormente para a frutose 2,6-bisfosfato (veja a p. 121). (Nota: um aumento no AMP estimula, portanto, vias que oxidam nutrientes, fornecendo energia para a célula.)

V. RESUMO DO CAPÍTULO

Os **precursores gliconeogênicos** incluem os **intermediários da glicólise** e do **ciclo do ácido cítrico**, o **glicérol** liberado pela hidrólise de triacilgliceróis no tecido adiposo, o **lactato** liberado no sangue pelas células que não possuem mitocôndrias e pelo músculo esquelético em exercício e os **α -cetoácidos** originários do metabolismo dos aminoácidos gliconeogênicos (Figura 10.9). Sete das reações da glicólise são reversíveis e são utilizadas pela gliconeogênese no fígado e nos rins. Três reações são **fisiologicamente irreversíveis** e devem ser contornadas. Essas reações são catalisadas pelas enzimas glicolíticas **piruvato-cinase**, **fosfofrutocinase** e **hexocinase**. O **piruvato** é convertido em oxalacetato (OAA) e a seguir em **fosfoenolpiruvato (PEP)** pelas enzimas **piruvato-carboxilase** e **PEP-carboxicinas**. A carboxilase requer **biotina** e **ATP** e é ativada alostericamente por **acetil-CoA**. A PEP-carboxicinas requer **GTP**. A transcrição de seu RNAm é aumentada pelo glucagon e diminuída pela insulina. A **frutose-1,6-bisfosfato** é convertida em **frutose-6-fosfato** pela **frutose-1,6-bisfosfatase**. Essa enzima é **inibida** quando aumentam os níveis de **AMP** e **ativada** quando os níveis de **ATP** estão elevados. Essa enzima é também **inibida** por **frutose-2,6-bisfosfato**, principal ativador alostérico da glicólise. A **glicose-6-fosfato** é convertida em **glicose** pela **glicose-6-fosfatase**. Essa atividade enzimática do RE é necessária para o último passo na gliconeogênese, assim como para a degradação hepática e renal do glicogênio. Uma deficiência dessa enzima resulta em grave hipoglicemia de jejum.

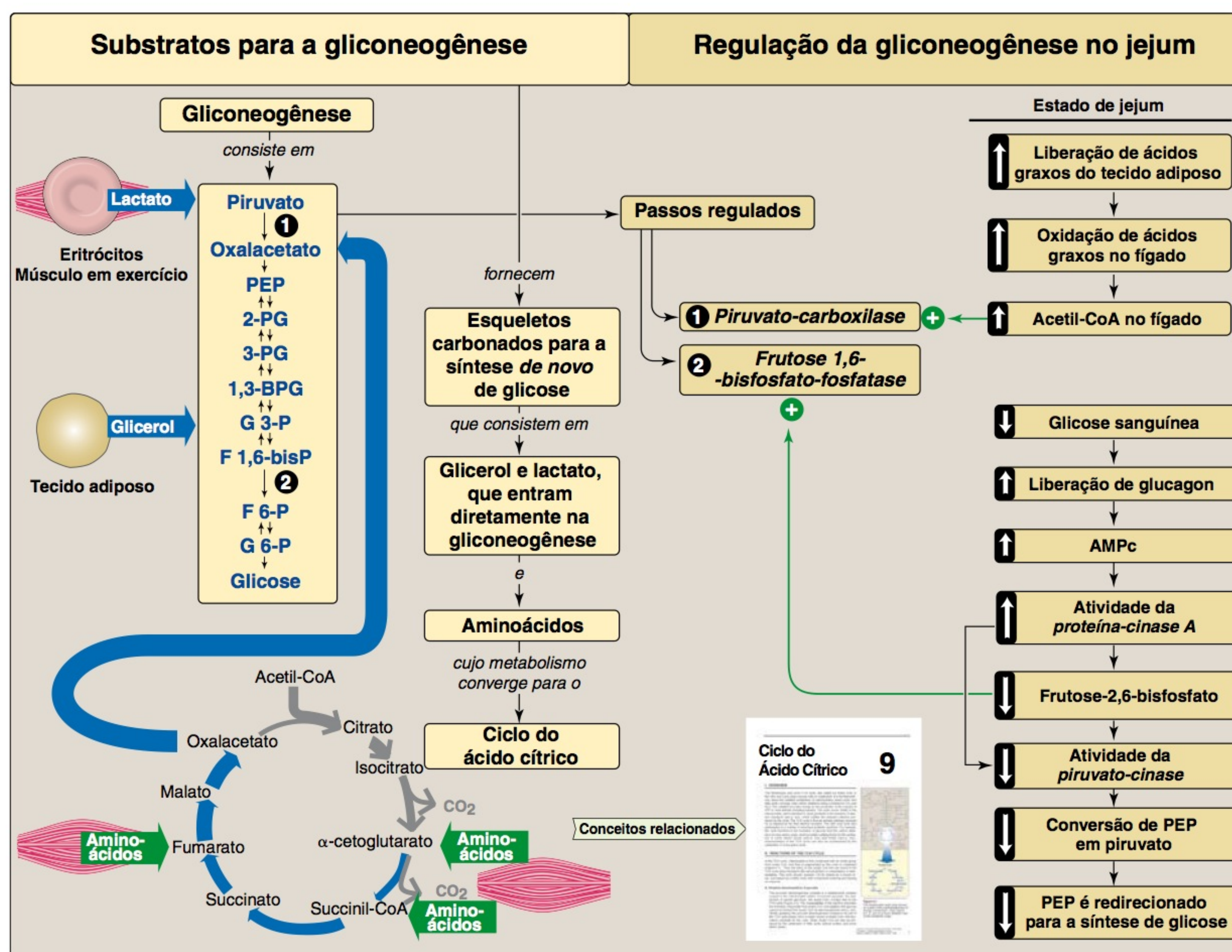


Figura 10.9

Mapa de conceitos-chave para a gliconeogênese.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 10.1 A síntese de glicose pela gliconeogênese a partir do piruvato:
- Ocorre exclusivamente no citosol.
 - É inibida por níveis elevados de glucagon.
 - Requer a participação de biotina.
 - Envolve lactato como intermediário.
 - Requer oxidação/redução de FAD.
- 10.2 Quais das seguintes afirmativas a respeito da gliconeogênese está correta?
- Ocorre no músculo.
 - É estimulada pela frutose-2,6-bisfosfato.
 - É inibida por níveis elevados de acetil-CoA.
 - É importante para a manutenção da glicose sanguínea durante o jejum que ocorre durante a noite.
 - Utiliza esqueletos carbonados originários da degradação de ácidos graxos.
- 10.3 Quais das seguintes reações é exclusiva da gliconeogênese?
- Lactato → Piruvato
 - Fosfoenolpiruvato → Piruvato
 - Oxalacetato → Fosfoenolpiruvato
 - Glicose-6-fosfato → Frutose-6-fosfato
 - 1,3-Bisfosfoglicerato → 3-Fosfoglicerato
- 10.4 O metabolismo do etanol pela álcool-desidrogenase (ADH) produz NADH. Qual o efeito esperado de uma alteração na relação NAD^+/NADH sobre a gliconeogênese?
- 10.5 Uma vez que a acetil-CoA não é substrato para a gliconeogênese, por que sua produção na β -oxidação de ácidos graxos é essencial para a gliconeogênese?
- 10.6 Qual o efeito do AMP sobre a gliconeogênese e a glicólise? Quais enzimas são afetadas?

Resposta correta = C. A biotina é a coenzima/grupo prostético da piruvato-carboxilase. A carboxilação do piruvato ocorre na mitocôndria. O glucagon estimula a gliconeogênese. O lactato não é intermediário na conversão de piruvato em glicose; entretanto, o piruvato pode ser produzido a partir do lactato. O FAD não está envolvido na gliconeogênese.

Resposta correta = D. Durante o jejum que ocorre à noite, o glicogênio sofre uma depleção parcial, e a gliconeogênese fornece glicose para o sangue. A gliconeogênese é inibida pela frutose-2,6-bisfosfato e estimulada por níveis elevados de acetil-CoA. A degradação de ácidos graxos produz acetil-CoA, que não pode ser convertida em glicose. Isso ocorre pois não há ganho líquido de carbonos da acetil-CoA no ciclo do ácido cítrico, e a reação da PDH é irreversível fisiologicamente. Os esqueletos carbonados da maior parte dos aminoácidos, porém, são gliconeogênicos.

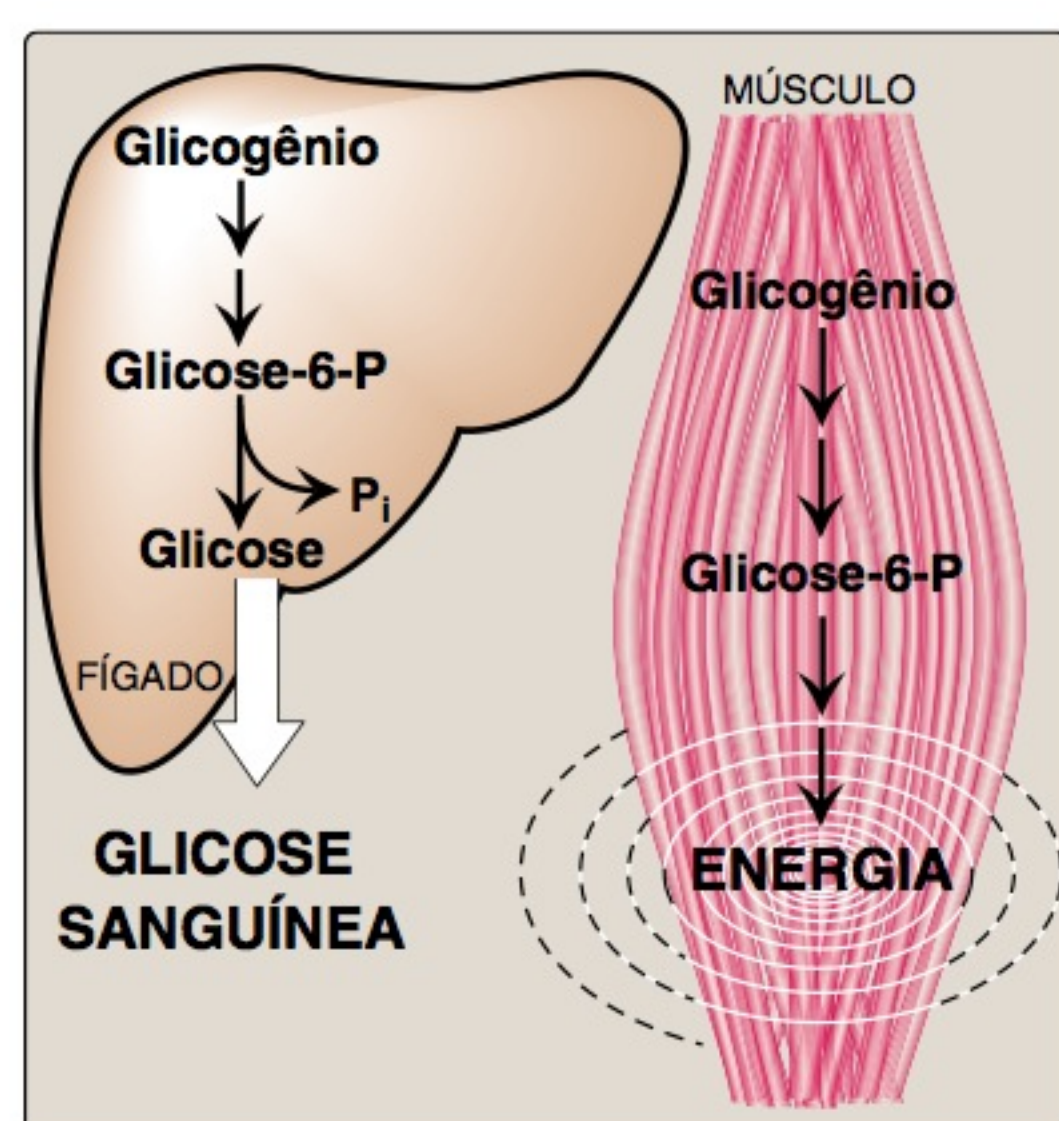
Resposta correta = C. As demais reações são comuns tanto à gliconeogênese quanto à glicólise.

O aumento nos níveis de NADH, à medida em que o etanol é oxidado, diminui a disponibilidade de OAA, pois a reação de oxidação reversível de malato a OAA pela malato-desidrogenase do ciclo do ácido cítrico será deslocada no sentido inverso por altas concentrações de NADH. Além disso, a redução reversível de piruvato em lactato pela lactato-desidrogenase da glicólise é impulsionada na direção do lactato pelo NADH. Assim sendo, dois importantes substratos da gliconeogênese, OAA e piruvato, estão diminuídos como resultado do aumento do NADH durante o metabolismo do etanol. Isso resulta em diminuição da gliconeogênese.

A acetil-CoA inibe a piruvato-desidrogenase e ativa a piruvato-carboxilase, favorecendo a entrada do piruvato na gliconeogênese.

O AMP inibe a gliconeogênese pela inibição da frutose-1,6-bisfosfatase, e favorece a glicólise pela ativação da fosfofrutocinase-1. (A frutose-2,6-bisfosfato tem efeito semelhante sobre essas enzimas.)

A síntese e a degradação de glicogênio são mostradas como parte das reações essenciais do metabolismo energético (veja a Figura 8.2, na p. 92, para maiores detalhes das reações do metabolismo geral).

**Figura 11.2**

Funções do glicogênio muscular e do glicogênio hepático.

A. Quantidades de glicogênio hepático e muscular

Aproximadamente 400 g de glicogênio compõem 1 a 2% do peso do músculo em repouso, e cerca de 100 g perfazem até 10% do peso do fígado de um adulto bem alimentado. Não se sabe ao certo o que limita a produção de glicogênio a esses níveis. Contudo, em algumas doenças vinculadas ao armazenamento de glicogênio (veja a Figura 11.8), sua quantidade no fígado e/ou no músculo pode ser significativamente mais elevada.

B. A estrutura do glicogênio

O glicogênio é um homopolissacarídeo de cadeia ramificada formado, exclusivamente, por α -D-glicose. A união glicosídica primária é uma ligação $\alpha(1\rightarrow4)$. Após uma média de 8 a 10 resíduos glicosila, há uma ramificação contendo ligação $\alpha(1\rightarrow6)$ (Figura 11.3). Uma única molécula de glicogênio pode ter massa molecular de até 10^8 daltons. Essas moléculas existem em pequenos grânulos citoplasmáticos, que contêm a maioria das enzimas necessárias para a síntese e a degradação de glicogênio.

C. Flutuação dos estoques de glicogênio

Os estoques de glicogênio hepático aumentam durante o estado alimentado (veja a p. 323) e são esgotados durante o jejum (veja a p. 329). O glicogênio muscular não é afetado por períodos curtos (alguns dias) de jejum e só diminui moderadamente em jejuns prolongados (semanas). O glicogênio muscular é sintetizado para repor os estoques dos músculos, depois de terem sido esgotados, por exemplo, após um exercício extenuante. (Nota: a síntese e a degradação de glicogênio são processos citosólicos que acontecem de forma contínua. As diferenças entre as velocidades desses dois processos determinam os níveis de glicogênio armazenado durante estados fisiológicos específicos.)

III. SÍNTESE DE GLICOGÊNIO (GLICOGÊNESE)

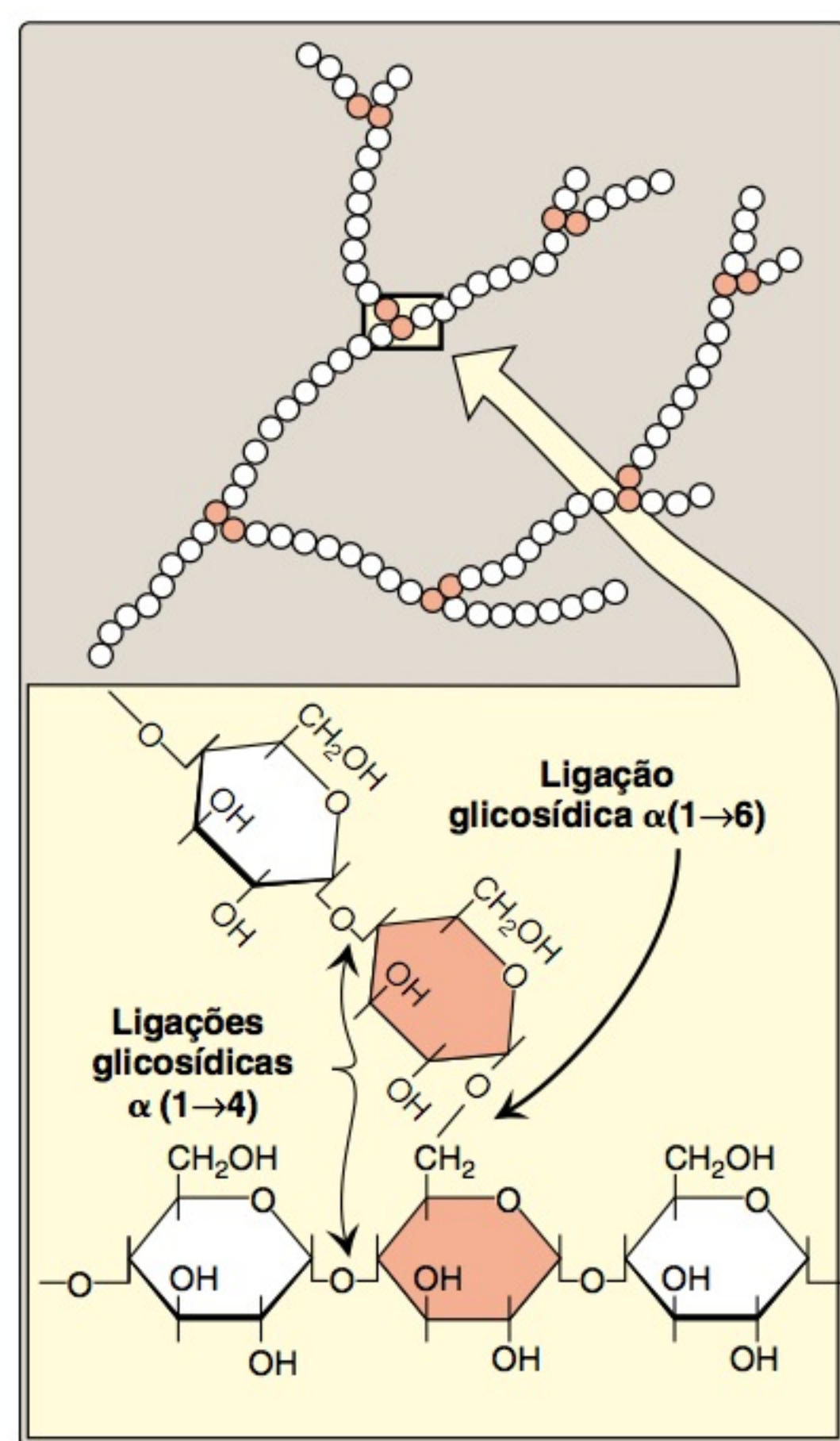
O glicogênio é sintetizado a partir das moléculas de α -D-glicose. O processo ocorre no citosol e requer energia fornecida pelo ATP (para a fosforilação da glicose) e pelo trifosfato de uridina (UTP).

A. Síntese de UDP-glicose

A α -D-glicose ligada ao difosfato de uridina (UDP) é a fonte de todos os resíduos glicosila que são adicionados à molécula de glicogênio em formação. A UDP-glicose (Figura 11.4) é sintetizada a partir da glicose-1-fosfato e do UTP pela *UDP-glicose-pirofosforilase* (Figura 11.5). A ligação rica em energia do pirofosfato (PP_i), o segundo produto da reação, é hidrolisada pela *pirofosfatase*, produzindo dois fosfatos inorgânicos (P_i), garantindo que a reação catalisada pela *UDP-glicose-pirofosforilase* se dê na direção da produção de UDP-glicose. (Nota: a glicose-6-fosfato é convertida em glicose-1-fosfato pela *fosfoglicomutase*. A glicose-1,6-bis-fosfato é um intermediário obrigatório nessa reação [Figura 11.6].)

B. Síntese de um iniciador (segmento inicial) para a síntese de glicogênio

A *glicogênio-sintase* é responsável pela formação das ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ no glicogênio. Essa enzima não consegue iniciar a síntese da cadeia homopolissacarídica usando a glicose livre como acceptora de uma molécula de glicose oriunda da UDP-glicose. Em vez disso, ela só consegue alongar ca-

**Figura 11.3**

Estrutura ramificada do glicogênio, mostrando as ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$.

deias de glicose já existentes. Sendo assim, um fragmento de glicogênio pode servir como segmento inicial (iniciador) em células cujos estoques de glicogênio não estejam totalmente esgotados. Na ausência de um fragmento de glicogênio, uma proteína chamada *glicogenina* pode servir como aceptora de resíduos de glicose oriundos da UDP-glicose (Figura 11.5). O grupo hidroxila da cadeia lateral de uma tirosina específica serve como local onde a unidade glicosila inicial é unida. A reação é catalisada pela própria *glicogenina* (autoglicosilação). Assim, a *glicogenina* é uma enzima. A *glicogenina* catalisa a seguir a transferência das próximas moléculas de glicose a partir da UDP-glicose, formando uma cadeia curta de resíduos glicosila unidos por ligação $\alpha(1\rightarrow4)$. Essa cadeia curta serve como iniciador para receber futuros resíduos de glicose, sendo alongada pela *glicogênio-sintase*, como descrito a seguir. (Nota: a *glicogenina* continua associada à molécula de glicogênio e constitui o núcleo do grânulo de glicogênio.)

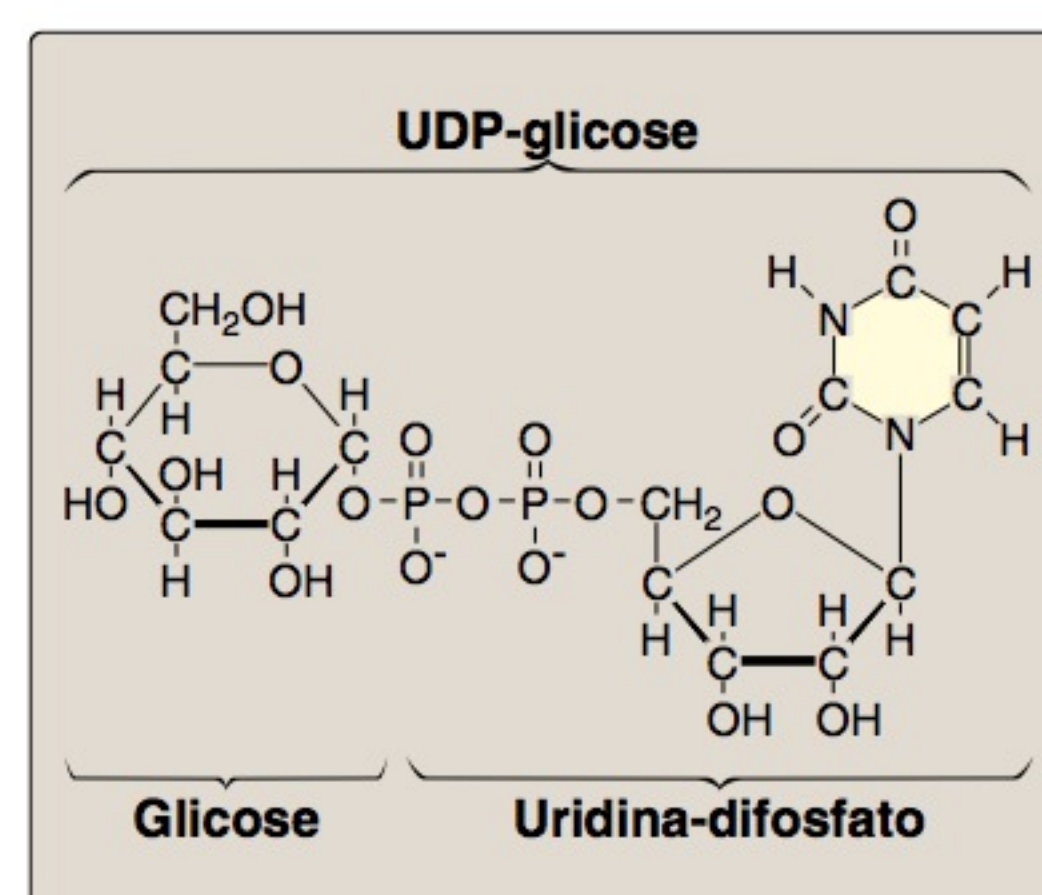


Figura 11.4

A estrutura da UDP-glicose, um nucleotídeo-açúcar.

C. Alongamento das cadeias do glicogênio pela glicogênio-sintase

O alongamento de uma cadeia de glicogênio envolve a transferência de um resíduo de glicose a partir da UDP-glicose para a extremidade não redutora da cadeia em crescimento, formando uma nova ligação glicosídica entre a hidroxila do carbono anômero (carbono 1) da glicose ativada (UDP-glicose) e a hidroxila do carbono 4 do resíduo glicosil acceptor (Figura 11.5). (Nota: a extremidade “não redutora” de uma cadeia de carboidrato é aquela em que o carbono anômero do açúcar terminal está unido por uma ligação glicosídica a outro composto, tornando o açúcar terminal “não redutor” [veja a p. 84].) A enzima responsável pela formação de ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ no glicogênio é a *glicogênio-sintase*. (Nota: o UDP liberado quando a nova ligação glicosídica $\alpha(1\rightarrow4)$ é formada pode ser convertido novamente em UTP pela *nucleosídeo-difosfato-cinase* [$\text{UDP} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{UTP} + \text{ADP}$, veja a p. 296].)

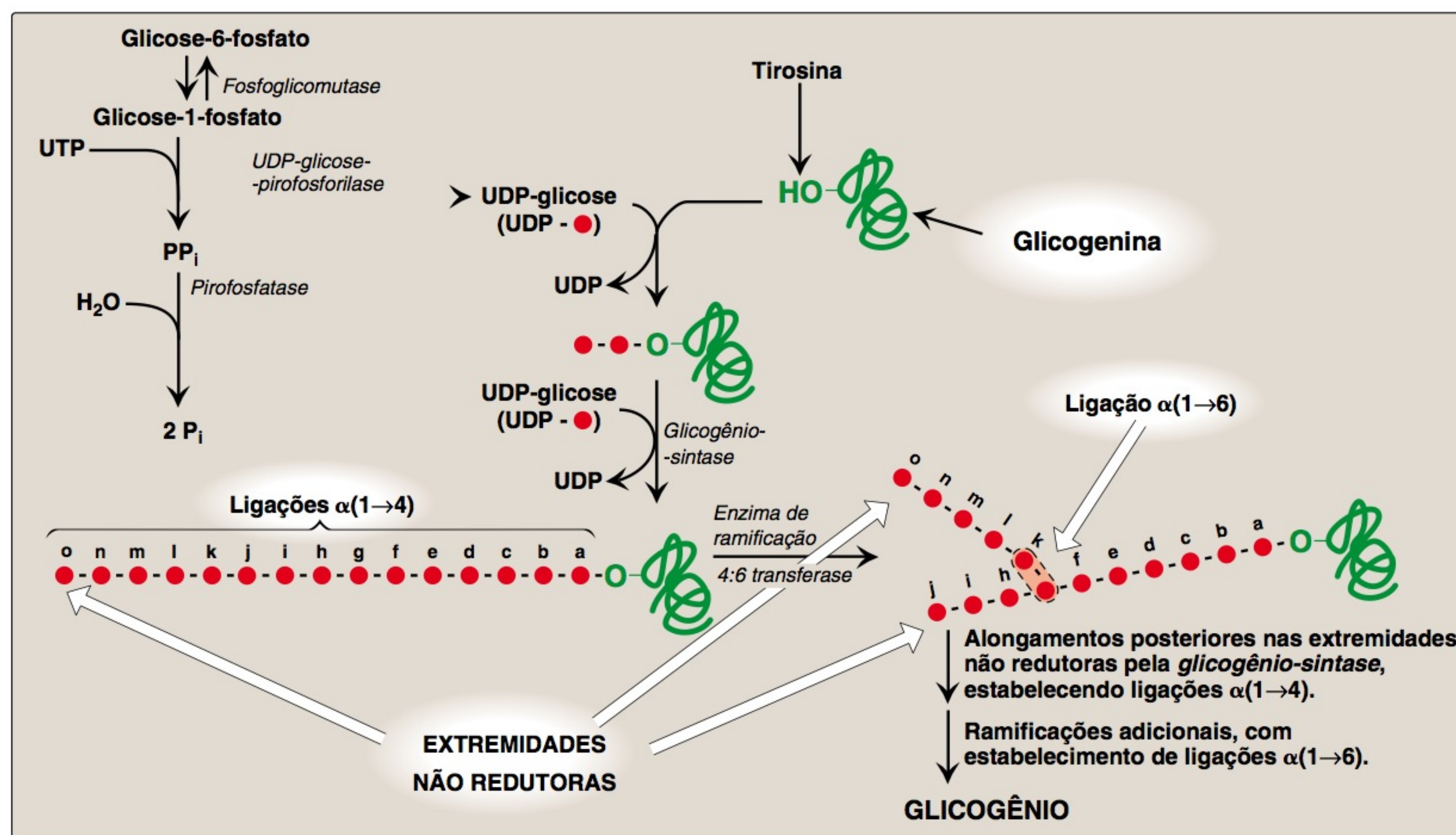


Figura 11.5

Síntese de glicogênio.

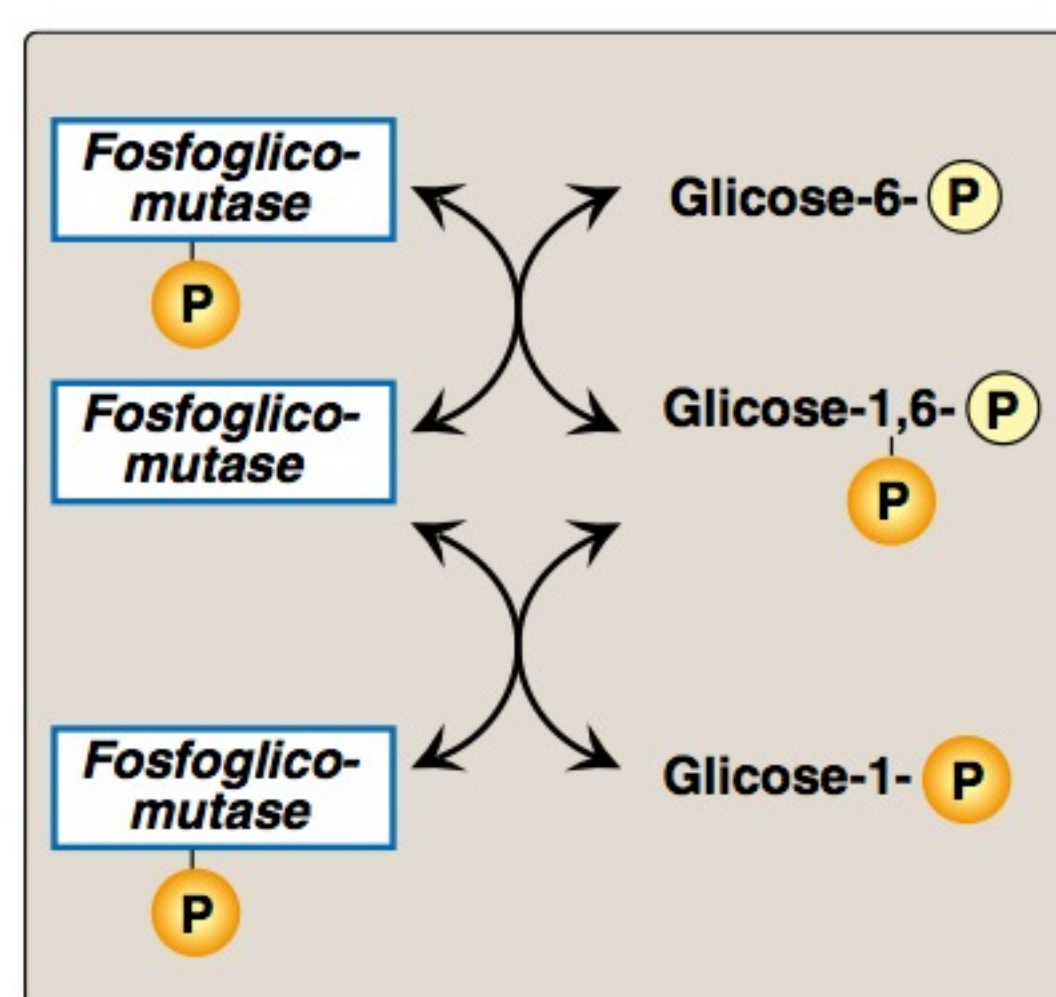


Figura 11.6

Interconversão de glicose-6-fosfato e glicose-1-fosfato pela *fosfoglicomutase*.

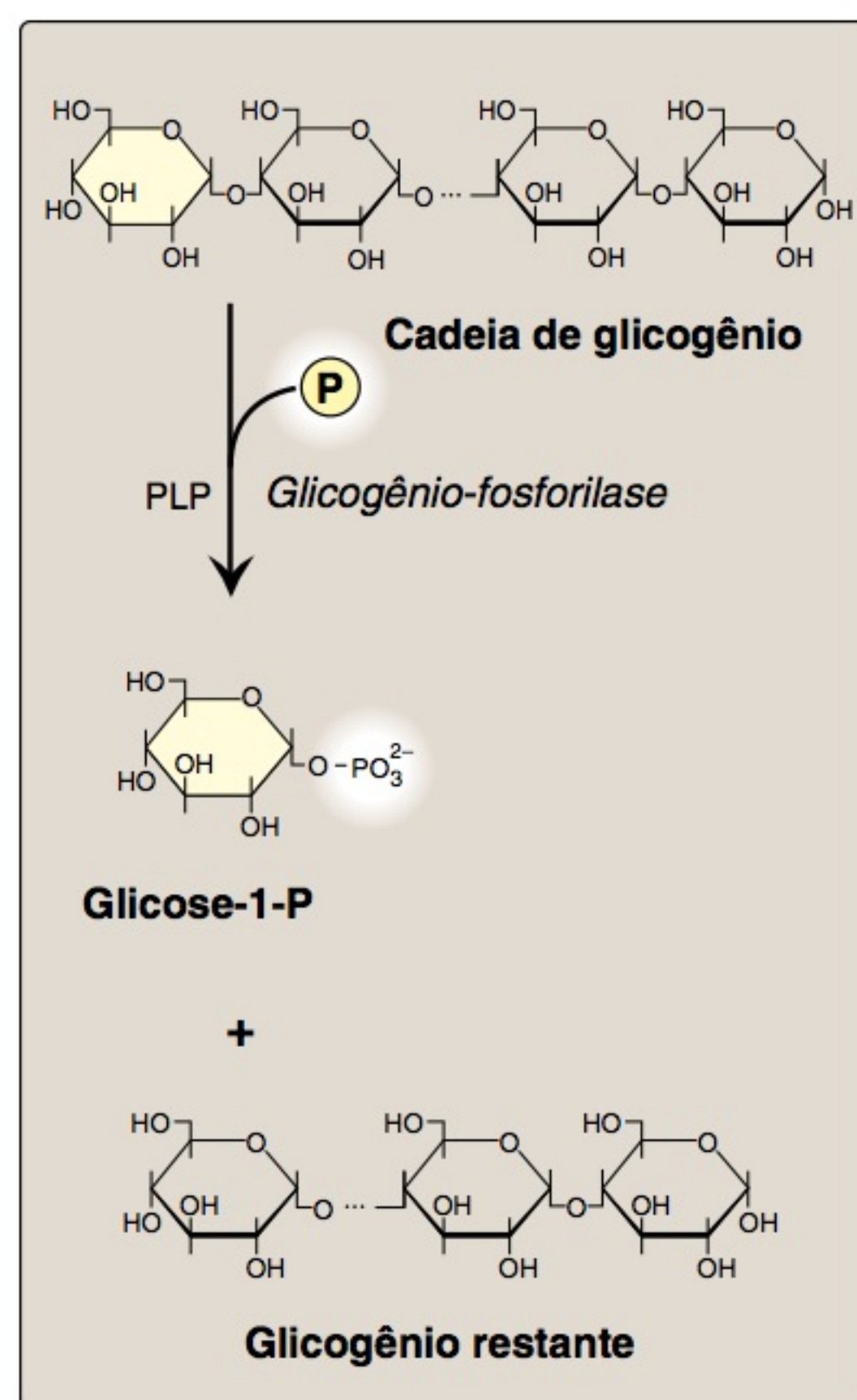


Figura 11.7

Clivagem de uma ligação $\alpha(1 \rightarrow 4)$ glicosídica por fosforólise. PLP = Piridoxal-fosfato.

D. Formação das ramificações no glicogênio

Se nenhuma outra enzima de síntese agisse sobre a cadeia, a estrutura resultante seria uma molécula linear (não ramificada) de resíduos glicosila, unidos por ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$. Um composto com essas características encontrado em tecidos vegetais é denominado amilose. Em vez disso, o glicogênio possui ramificações, localizadas, em média, em intervalos de oito resíduos glicosila, resultando em uma estrutura altamente ramificada, semelhante a uma árvore (Figura 11.3), e, por sua vez, muito mais solúvel do que a cadeia não ramificada da amilose. As ramificações aumentam o número de extremidades não redutoras às quais se podem acrescentar novos resíduos glicosila (e, como descrito posteriormente, das quais se podem remover esses resíduos), acelerando assim, enormemente, a velocidade em que pode ocorrer a síntese de glicogênio. Além disso, as ramificações aumentam muito o tamanho dessa molécula.

- 1. Formação das ramificações.** As ramificações são formadas pela ação da “enzima de ramificação” *amilo- $\alpha(1 \rightarrow 4) \rightarrow \alpha(1 \rightarrow 6)$ -transglicosidase*. Essa enzima transfere uma cadeia de 6 a 8 resíduos glicosila da extremidade não redutora da cadeia do glicogênio [clivando uma ligação $\alpha(1 \rightarrow 4)$] para outro resíduo (um resíduo não terminal) na cadeia, unindo-a por meio de uma ligação $\alpha(1 \rightarrow 6)$, funcionando, portanto, como uma *4:6 transferase*. A nova extremidade não redutora (veja “j”; na Figura 11.5), bem como a antiga extremidade não redutora, da qual 6 a 8 resíduos foram removidos (veja “o”; na Figura 11.5), podem, agora, ser novamente alongadas pela *glicogênio-sintase*.
- 2. Formação de ramificações adicionais.** Após o alongamento dessas duas extremidades por ação da *glicogênio-sintase*, os seus 6 a 8 resíduos glicosila terminais podem ser removidos e utilizados para formar outras ramificações.

IV. DEGRADAÇÃO DO GLICOGÊNIO (GLICOGENÓLISE)

A via de degradação que mobiliza o glicogênio armazenado no fígado e no músculo esquelético não é o inverso das reações de síntese. Em vez disso, é necessário um conjunto particular de enzimas citosólicas. Quando o glicogênio é degradado, o produto primário é a glicose-1-fosfato, obtida pela clivagem das ligações glicosídicas $\alpha(1 \rightarrow 4)$. Além disso, glicose livre é liberada a partir de cada resíduo glicosila unido por ligações $\alpha(1 \rightarrow 6)$.

A. Encurtamento de cadeias

A *glicogênio-fosforilase* cliva, sequencialmente, as ligações glicosídicas $\alpha(1 \rightarrow 4)$ entre os resíduos glicosila, a partir das extremidades não redutoras das cadeias de glicogênio, por meio de fosforólise simples (produzindo glicose-1-fosfato), até que restem quatro unidades glicosila em cada cadeia antes do ponto de ramificação (Figura 11.7). (Nota: essa enzima contém uma molécula de piridoxal-fosfato ligada covalentemente, que é necessária como coenzima.) A estrutura resultante é chamada de dextrina-limite e a *fosforilase* não consegue degradá-la (Figura 11.8).

B. Remoção das ramificações

As ramificações são removidas por duas atividades enzimáticas de uma única proteína bifuncional, a enzima de desramificação (Figura 11.8). Em primeiro lugar, a atividade *oligo- $\alpha(1 \rightarrow 4) \rightarrow \alpha(1 \rightarrow 4)$ -glican-transferase* remove, dos quatro resíduos glicosil ligados à ramificação, os três mais

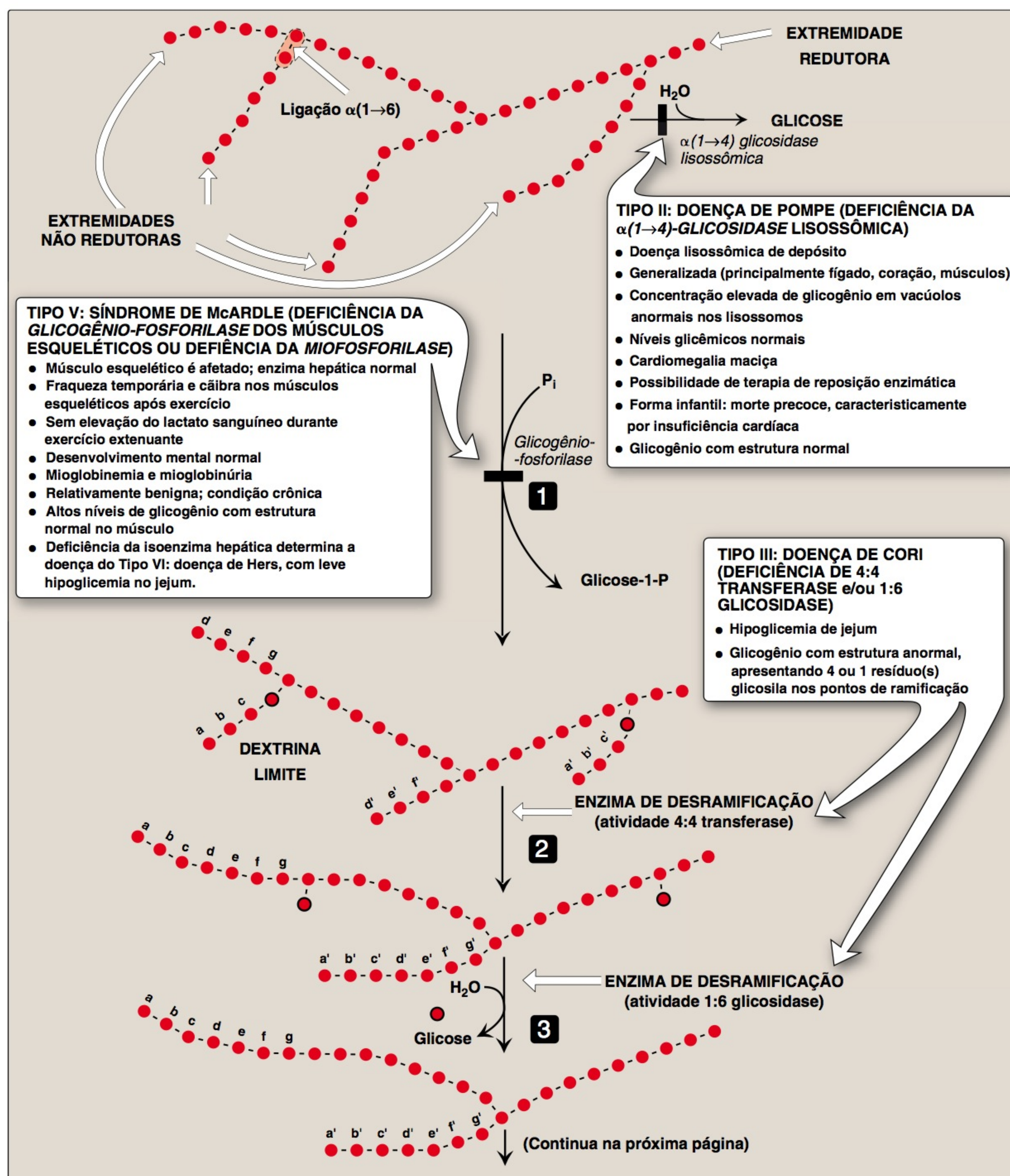


Figura 11.8

Degradação do glicogênio, mostrando algumas das doenças de armazenamento (depósito) do mesmo (DDG). (Nota: as DDGs podem ser determinadas, também, por deficiências na *enzima de ramificação*, uma enzima da síntese, resultando na doença do Tipo IV: Doença de Andersen, provocando morte precoce na primeira infância.) (Continua na próxima página.)

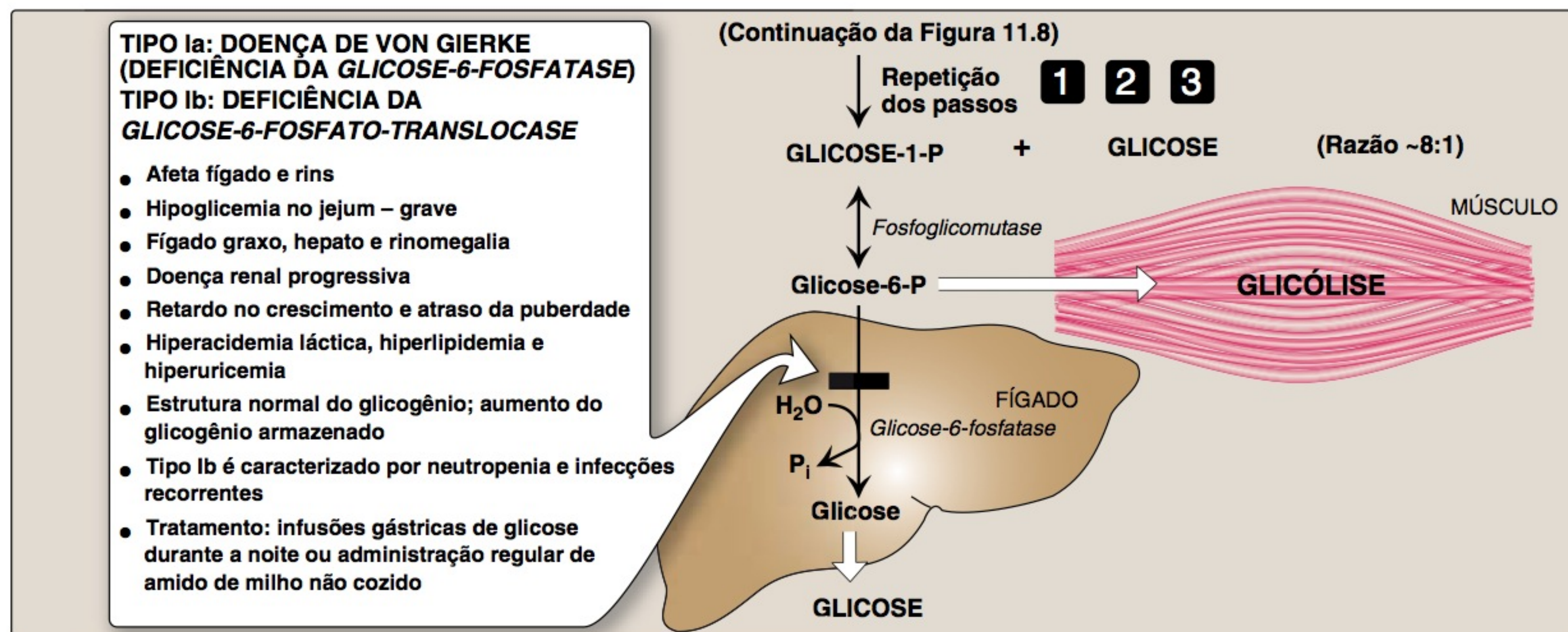


Figura 11.8. (Continuação).

externos. A seguir, ela os transfere para a extremidade não redutora de outra cadeia, alongando-a. Dessa forma, uma ligação $\alpha(1 \rightarrow 4)$ é rompida e outra ligação $\alpha(1 \rightarrow 4)$ é formada, e a enzima funciona como uma 4:4 *transferase*. Logo após, o resíduo de glicose restante, unido por ligação $\alpha(1 \rightarrow 6)$, é hidrolisado pela atividade *amilo- $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -glicosidase*, liberando glicose livre. A cadeia glicosídica está novamente disponível para a degradação pela *glicogênio-fosforilase*, até que sejam alcançadas quatro unidades glicosila da próxima ramificação.

C. Conversão de glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato

A glicose-1-fosfato, produzida pela *glicogênio-fosforilase*, é convertida no citosol em glicose-6-fosfato pela *fosfoglicomutase* – reação que produz glicose-1,6-bisfosfato como intermediário temporário, mas essencial (Figura 11.6). No fígado, a glicose-6-fosfato é transposta para o retículo endoplasmático (RE) pela *glicose-6-fosfato-translocase*. Nessa estrutura celular, ela é convertida em glicose pela *glicose-6-fosfatase* – a mesma enzima utilizada na última etapa da gliconeogênese (veja a p. 121). Então, a glicose resultante é transportada do RE para o citosol. Os hepatócitos liberam as moléculas de glicose derivadas do glicogênio no sangue para ajudar a manter os níveis sanguíneos de glicose até que a via gliconeogênica esteja ativamente produzindo glicose. (Nota: no músculo, a glicose-6-fosfato não pode ser desfosforilada devido à ausência da *glicose-6-fosfatase*. Em vez disso, ela entra na via glicolítica, fornecendo a energia necessária para a contração muscular.)

D. Degradação lisossômica do glicogênio

Uma pequena quantidade de glicogênio (1 a 3%) é continuamente degradada pela enzima lisossômica $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -*glicosidase* (*maltase ácida*). O objetivo dessa via é desconhecido. Entretanto, a deficiência dessa enzima gera um acúmulo de glicogênio em vacúolos nos lisossomos, resultando na grave doença de armazenamento do glicogênio do tipo II (doença de Pompe, veja a Figura 11.8). (Nota: A doença do tipo II [doença de Pompe] é a única doença de armazenamento do glicogênio que corresponde a uma doença lisossômica de armazenamento.)

Doenças lisossômicas de armazenamento são doenças genéticas caracterizadas pelo acúmulo de quantidades anormais de carboidratos ou de lipídeos devido, principalmente, a uma redução em suas degradações lisossômicas.

V. REGULAÇÃO DA SÍNTESE E DA DEGRADAÇÃO DO GLICOGÊNIO

Devido à importância da manutenção dos níveis de glicose no sangue, a síntese e a degradação do glicogênio (forma de armazenamento da glicose) são firmemente reguladas. No fígado, a síntese do glicogênio é acelerada quando o corpo está bem alimentado, enquanto a degradação do glicogênio é acelerada em períodos de jejum. No músculo esquelético, a degradação do glicogênio ocorre durante o exercício, e a síntese começa assim que o músculo entra novamente em descanso. A regulação da síntese e da degradação do glicogênio ocorre em dois níveis. Em primeiro lugar, a *glicogênio-sintase* e a *glicogênio-fosforilase* são reguladas hormonalmente para satisfazer as necessidades do organismo como um todo. Em segundo lugar, as vias de síntese e de degradação do glicogênio são controladas alostericamente para satisfazer as necessidades de um determinado tecido.

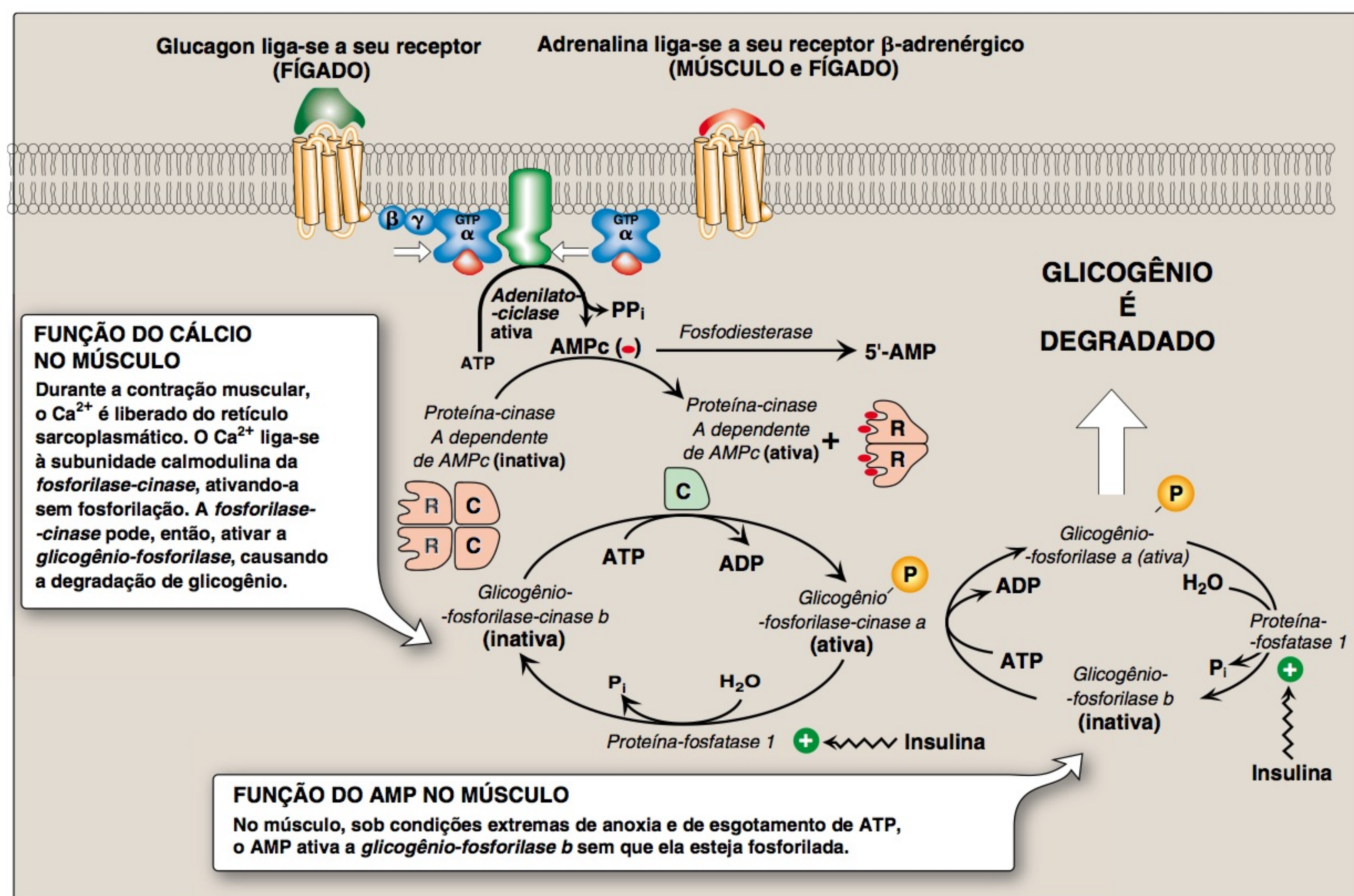
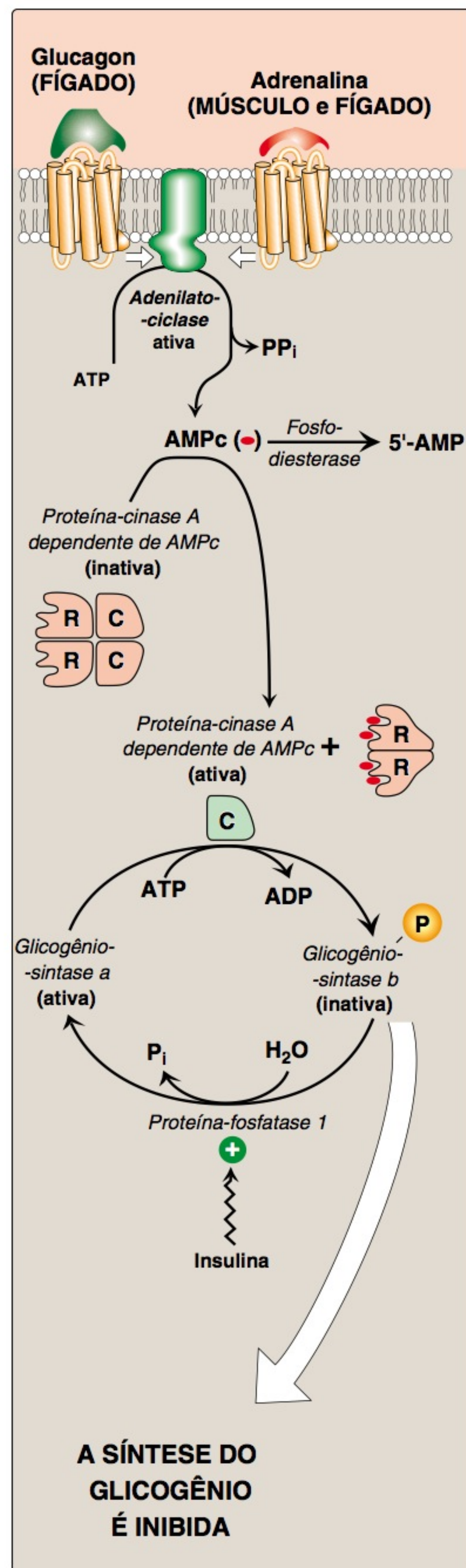


Figura 11.9

Ativação e inibição da degradação do glicogênio.

**Figura 11.10**

Regulação hormonal da síntese de glicogênio. (Nota: ao contrário da *glicogênio-fosforilase*, a *glicogênio-sintase* é inativa se fosforilada.)

A. Ativação da degradação do glicogênio pela via direcionada pelo AMPc

A ligação de hormônios – como glucagon ou adrenalina – a receptores da membrana plasmática acoplados à proteína G sinaliza a necessidade de o glicogênio ser degradado, tanto para elevar os níveis da glicose sanguínea como para fornecer energia ao músculo em exercício.

- 1. Ativação da proteína-cinase A.** A ligação do glucagon ou da adrenalina aos seus receptores específicos acoplados à proteína G (RAPG) nos hepatócitos, ou aos receptores RAPG da adrenalina nos miócitos, resulta na ativação da *adenilato-ciclase* mediada por proteína G. Essa enzima catalisa a síntese de AMPc, o qual ativa a *proteína-cinase A dependente de AMPc* (PKA), como descrito na p. 95. A PKA é um tetrâmero, possuindo duas subunidades reguladoras (R) e duas subunidades catalíticas (C). O AMPc liga-se ao dímero de subunidades reguladoras, liberando as subunidades catalíticas individuais, que são ativas (Figura 11.9). A PKA, então, fosforila várias enzimas do metabolismo do glicogênio, afetando suas atividades. (Nota: quando o AMPc é removido, o tetrâmero inativo R_2C_2 forma-se novamente.)
- 2. Ativação da fosforilase-cinase.** A *fosforilase-cinase* existe em duas formas: uma forma inativa “b” e uma forma ativa “a”. A PKA ativada fosforila a forma “b” inativa da *fosforilase-cinase*, resultando na sua ativação para a forma “a” (Figura 11.9). (Nota: a enzima fosforilada pode ser desativada por meio da remoção hidrolítica do seu fosfato pela *proteína-fosfatase-1*. Essa enzima é ativada por uma cascata de sinais, iniciada pela insulina [veja a p. 311]. A insulina ativa também a *fosfodiesterase*, que degrada o AMPc, opondo-se assim aos efeitos do glucagon e da adrenalina.)
- 3. Ativação da glicogênio-fosforilase.** A *glicogênio-fosforilase* também existe em duas formas: a forma inativa “b”, desfosforilada, e a forma ativa “a”, fosforilada. A *fosforilase-cinase* ativada fosforila a *glicogênio-fosforilase b*, gerando a forma ativa “a”, que dá início à degradação do glicogênio (Figura 11.9). A *fosforilase a* é convertida novamente em *fosforilase b* pela hidrólise de seu fosfato pela *proteína-fosfatase 1*. (Nota: A *proteína-fosfatase-1* é inativada por proteínas inibidoras, que se ligam a ela quando são fosforiladas e ativadas pela PKA.)
- 4. Resumo da regulação da degradação do glicogênio.** A cascata de reações listada anteriormente resulta na degradação do glicogênio. O grande número de etapas sequenciais serve para amplificar o efeito do sinal hormonal, ou seja, algumas moléculas de hormônios associadas aos seus receptores resultam na ativação de um determinado número de moléculas de *proteína-cinase A*, e cada uma delas pode ativar muitas moléculas de *fosforilase-cinase*. Isso resulta na produção de muitas moléculas de *glicogênio-fosforilase a* ativas que podem degradar o glicogênio.

B. Inibição da síntese de glicogênio por uma via direcionada pelo AMPc

A enzima regulada na síntese de glicogênio é a *glicogênio-sintase*. Ela também existe em duas formas, a forma “a”, ativa e a forma “b”, inativa. Entretanto, no caso da *glicogênio-sintase*, ao contrário da *fosforilase-cinase* e da *glicogênio-fosforilase*, a forma ativa é desfosforilada, enquanto a forma inativa é fosforilada (Figura 11.10). A *glicogênio-sintase a* é convertida na forma *b* (e, portanto, inativada), por fosforilação, em

vários sítios da enzima, com o nível de inativação proporcional ao seu grau de fosforilação. Esse processo de conversão é catalisado por várias *proteína-quinases* diferentes, reguladas pelo AMPc ou outros mecanismos sinalizadores (Veja C, a seguir). A *glicogênio-sintase b* pode ser transformada novamente em *sintase a* pela *proteína-fosfatase-1*, que remove hidroliticamente os grupos fosfato.

C. Regulação alostérica da síntese e da degradação do glicogênio

Em adição aos sinais hormonais, a *glicogênio-sintase* e a *glicogênio-fosforilase* respondem aos níveis dos metabólitos e às necessidades energéticas da célula. A glicogênese é estimulada quando a disponibilidade de substrato e os níveis de energia estiverem altos, enquanto a glicogenólise é aumentada quando os níveis de energia e o de glicose estiverem baixos. Essa regulação alostérica permite uma resposta rápida às necessidades celulares e pode se sobrepor aos efeitos da regulação covalente mediada por hormônios.

1. **Regulação da síntese e da degradação de glicogênio no estado alimentado.** No estado alimentado, a *glicogênio-sintase b*, no fígado e no músculo, é alostericamente ativada por glicose-6-fosfato quando esta estiver presente em concentrações elevadas (Figura 11.11). Em contraste, a *glicogênio-fosforilase a* é inibida alostericamente por glicose-6-fosfato, bem como por ATP, sinal de alto nível energético na célula. (Nota: no fígado, mas não no músculo, também a glicose não fosforilada é um inibidor alostérico da *glicogênio-fosforilase a*, tornando-a um melhor substrato para a *proteína-fosfatase-1*.)
 2. **Ativação da glicogenólise por cálcio.** O Ca^{2+} é liberado no citoplasma das células musculares em resposta a estímulos neurais e, nas células hepáticas, em resposta à ligação de adrenalina ao receptor α_1 -adrenérgico. O Ca^{2+} liga-se à calmodulina, o membro mais amplamente distribuído de uma família de pequenas proteínas ligantes de cálcio. A ligação de quatro íons Ca^{2+} à calmodulina desencadeia uma mudança conformacional, de maneira que o complexo Ca^{2+} -calmodulina ativado associa-se a moléculas proteicas – muitas vezes, enzimas – ativando-as, moléculas essas que estavam inativas na ausência desse complexo (Figura 11.12). Dessa forma, a calmodulina funciona como uma subunidade essencial de muitas proteínas complexas. Uma delas é a *fosforilase-quinase b*, que é ativada pelo complexo Ca^{2+} -calmodulina sem necessidade de que a *cinase* seja fosforilada pela *PKA*. (Nota: a adrenalina, ao se ligar a receptores β -adrenérgicos, determina o aumento de AMPc e não de cálcio [veja a p.131].)
- a. **Ativação da fosforilase-quinase muscular por cálcio.** Durante a contração muscular, há uma necessidade rápida e urgente de ATP. Essa energia é fornecida pela degradação de glicogênio muscular, produzindo glicose, a qual pode entrar na glicólise. Impulsos nervosos causam despolarização da membrana, o que, por sua vez, promove a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático para o sarcoplasma dos miócitos. O Ca^{2+} liga-se à calmodulina e o complexo ativa a *fosforilase-quinase b* (Figura 11.9).
 - b. **Ativação da fosforilase-quinase hepática por cálcio.** Durante situações de “luta ou fuga”, a adrenalina é liberada da medula adrenal, sinalizando a necessidade de glicose sanguínea. Essa

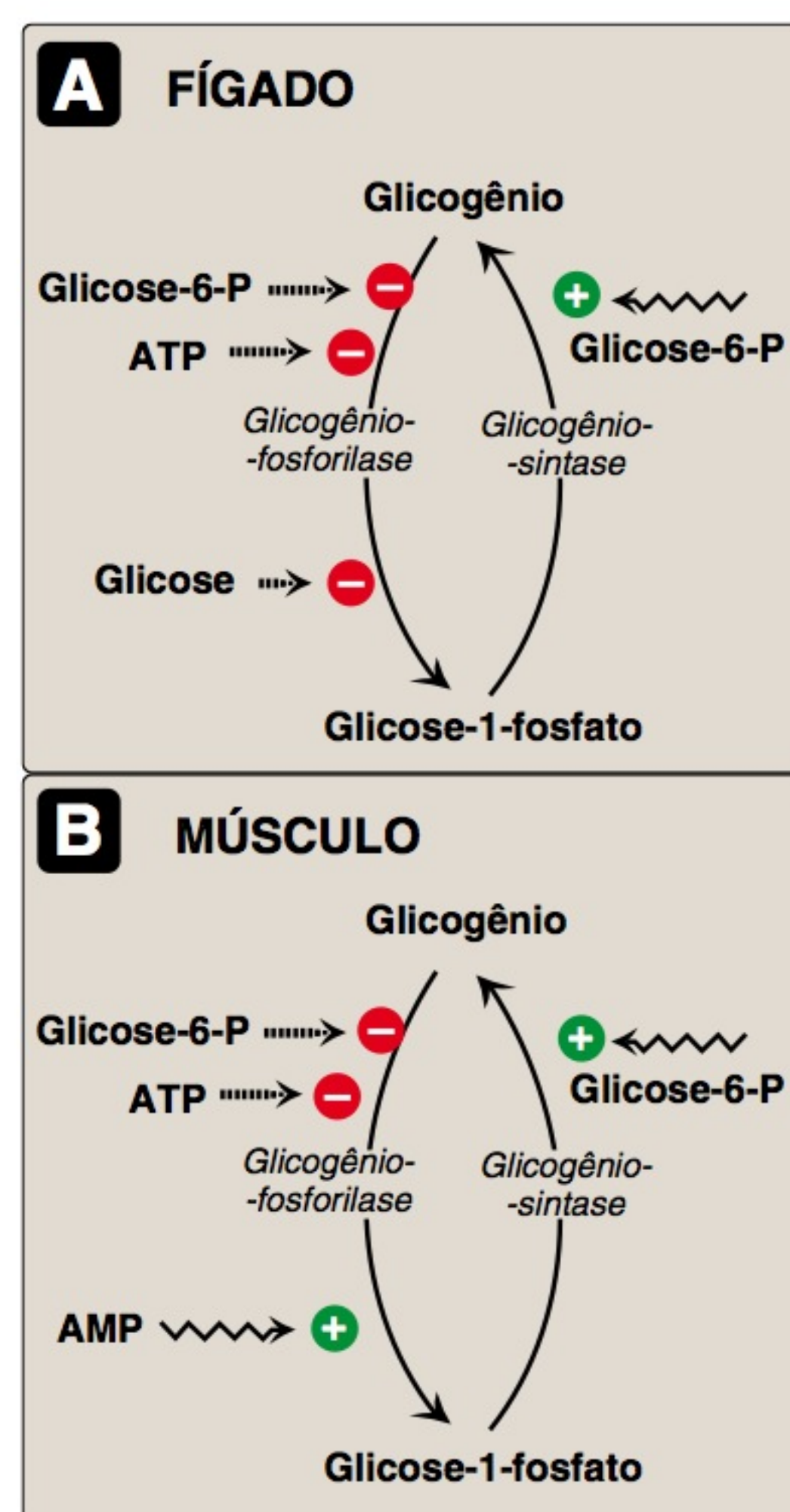


Figura 11.11

Regulação alostérica da síntese e da degradação do glicogênio. A. Fígado. B. Músculo. (Nota: Ca^{2+} ativa indiretamente a glicogênio fosforilase, tanto no músculo como no fígado, por ativação direta da *fosforilase-quinase*.)

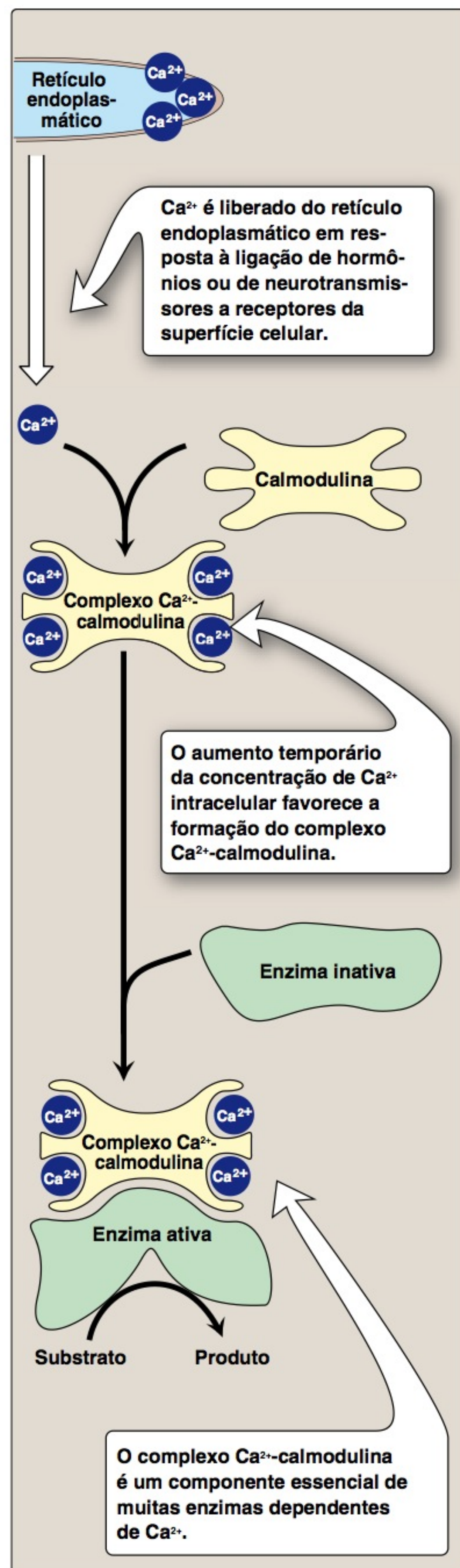


Figura 11.12
A calmodulina medeia muitos efeitos do cálcio intracelular.

glicose inicialmente vem da glicogenólise hepática. A ligação da adrenalina a receptores α -adrenérgicos acoplados à proteína G ativa uma cascata dependente de fosfolipídeo (veja a p. 205), que resulta na liberação de Ca^{+2} do RE para o citoplasma. O complexo Ca^{+2} -calmodulina associa-se à *fosforilase-cinase b hepática*, ativando-a. (Nota: a liberação de Ca^{+2} também ajuda a ativar a *proteína-cinase C*, que pode fosforilar [e, portanto, inativar] a *glicogênio-sintase a*.)

- 3. Ativação da degradação do glicogênio no músculo pelo AMP.** A *glicogênio-fosforilase* muscular é ativada na presença de altas concentrações de AMP, que ocorrem no músculo sob condições extremas de anoxia e de depleção de ATP. O AMP se liga à *glicogênio-fosforilase b*, causando sua ativação sem fosforilação (Figura 11.9). (Nota: observe que o AMP também ativa a *PFK-1* da glicólise [veja a p. 99].)

VI. DOENÇAS DE ARMAZENAMENTO DO GLICOGÊNIO

Essas constituem um grupo de doenças genéticas resultantes de um defeito em uma das enzimas necessárias para a síntese ou para a degradação do glicogênio. Elas resultam na formação de glicogênio com estrutura anormal ou no acúmulo de quantidades excessivas de glicogênio normal em tecidos específicos, em consequência de uma degradação prejudicada. Uma determinada enzima pode estar defeituosa em um único tecido, como o fígado (resultando em hipoglicemia) ou o músculo (fraqueza muscular), ou o defeito pode ser mais generalizado, afetando fígado, músculo, rim, intestino e miocárdio. A gravidade das doenças de armazenamento (depósito) do glicogênio (DDG) varia desde as fatais, no início da infância, até transtornos leves, que não ameaçam a vida. Algumas das DDGs mais frequentes são mostradas na Figura 11.8.

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

Os **principais estoques** de glicogênio no organismo são encontrados nos **músculos esqueléticos**, onde servem como **reserva energética** para a síntese de ATP durante a **contração muscular**, e no **fígado**, onde o glicogênio é usado para **manter** a concentração de **glicose sanguínea**, especialmente **nos estágios iniciais do jejum**. O glicogênio é um polímero **altamente ramificado** de α -D-glicose. A principal ligação glicosídica é a **ligação $\alpha(1\rightarrow4)$** . Após aproximadamente 8 a 10 resíduos glicosila, há uma **ramificação** contendo uma **ligação $\alpha(1\rightarrow6)$** . A **UDP-glicose**, a **doadora de resíduos glicosila** para o glicogênio, é sintetizada a partir de **glicose-1-fosfato** e de **UTP** pela **UDP-glicose-pirofosforilase** (Figura 11.13). A glicose da UDP-glicose é transferida para as extremidades não redutoras das cadeias de glicogênio por uma **glicogênio-sintase** que **requer um segmento iniciador** e que estabelece **ligações $\alpha(1\rightarrow4)$** . O segmento iniciador é formado pela glicogenina. As **ramificações** são formadas pela **amilo- $\alpha(1\rightarrow4)\rightarrow\alpha(1\rightarrow6)$ -transglicosidase**, que transfere um oligossacarídeo de 6 a 8 resíduos glicosila, da extremidade não redutora da cadeia do glicogênio [**clivando uma ligação $\alpha(1\rightarrow4)$**] para outro resíduo na cadeia, inserindo o oligossacarídeo por meio de uma **ligação $\alpha(1\rightarrow6)$** . A **glicogênio-fosforilase** cliva

as ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$ entre resíduos glicosila nas **extremidades não redutoras** das cadeias de glicogênio, produzindo **glicose-1-fosfato**, e necessitando de **piridoxal-fosfato** como coenzima. Essa degradação sequencial continua até que restem quatro unidades glicosila em cada cadeia antes do ponto de ramificação. A estrutura resultante é chamada de **dextrina-limite** e é degradada pela enzima bifuncional de desramificação. A **oligo- $\alpha(1 \rightarrow 4) \rightarrow \alpha(1 \rightarrow 4)$ -glican-transferase** (nome comum, **glicosil-(4:4)-transferase**) remove os três resíduos glicosila mais externos dos quatro ligados a uma ramificação e os transfere à extremidade não redutora de outra cadeia, onde podem ser convertidos em glicose-1-fosfato pela glicogênio-fosforilase. A seguir, o único resíduo glicosila que resta unido por **ligação $\alpha(1 \rightarrow 6)$** é removido hidroliticamente pela atividade de **amilo- $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -glicosidase** da enzima de desramificação, liberando **glicose livre**. A **glicose-1-fosfato** é convertida em **glicose-6-fosfato** pela **fosfoglicomutase**. No **músculo**, a glicose-6-fosfato entra na via glicolítica. No **fígado**, o fosfato é removido pela **glicose-6-fosfatase**, liberando **glicose livre**, que pode ser usada para manter os níveis de glicose no sangue no início de um jejum. Uma **deficiência** dessa **fosfatase** causa a **doença do armazenamento de glicogênio do tipo Ia (doença de Von Gierke)**. Essa doença resulta na incapacidade do fígado de fornecer glicose livre para o corpo durante o jejum, e afeta a degradação do glicogênio e a gliconeogênese. A síntese e a degradação de glicogênio são reciprocamente reguladas pelos mesmos sinais hormonais para suprir as necessidades do organismo, ou seja, um nível **elevado** de **insulina** resulta em **aumento** geral da **glicogênese** e em **diminuição** na **glicogenólise**, enquanto que um nível **elevado** de **glucagon** (ou de **adrenalina**) determina **maior glicogenólise** e **menor glicogênese**. As enzimas-chave (reguladoras) são fosforiladas por uma família de **proteína-cinases**, algumas das quais são **dependentes de AMPc** (composto que aumenta por ação do **glucagon** e da **adrenalina**). Os grupos fosfato são removidos pela **proteína-fosfatase 1** (ativada quando os níveis de **insulina** estão elevados). A **glicogênio-sintase**, a **fosforilase-cinase** e a **glicogênio-fosforilase** são **reguladas alostericamente** para suprir as necessidades dos tecidos. No estado alimentado, a **glicogênio-sintase** é **ativada** pela **glicose-6-fosfato**, enquanto a **glicogênio-fosforilase** é **inibida** pela **glicose-6-fosfato**, bem como pelo **ATP**. No **fígado**, a **glicose** também serve como **inibidor** alostérico da **glicogênio-fosforilase**. O Ca^{2+} é liberado do **retículo endoplasmático** no músculo durante o exercício e, no fígado, em resposta à adrenalina. Ele **ativa** a **fosforilase-cinase** ao associar-se a uma subunidade da enzima, a **calmodulina**, o que permite que a enzima ative a **glicogênio-fosforilase**, causando assim a degradação de glicogênio.

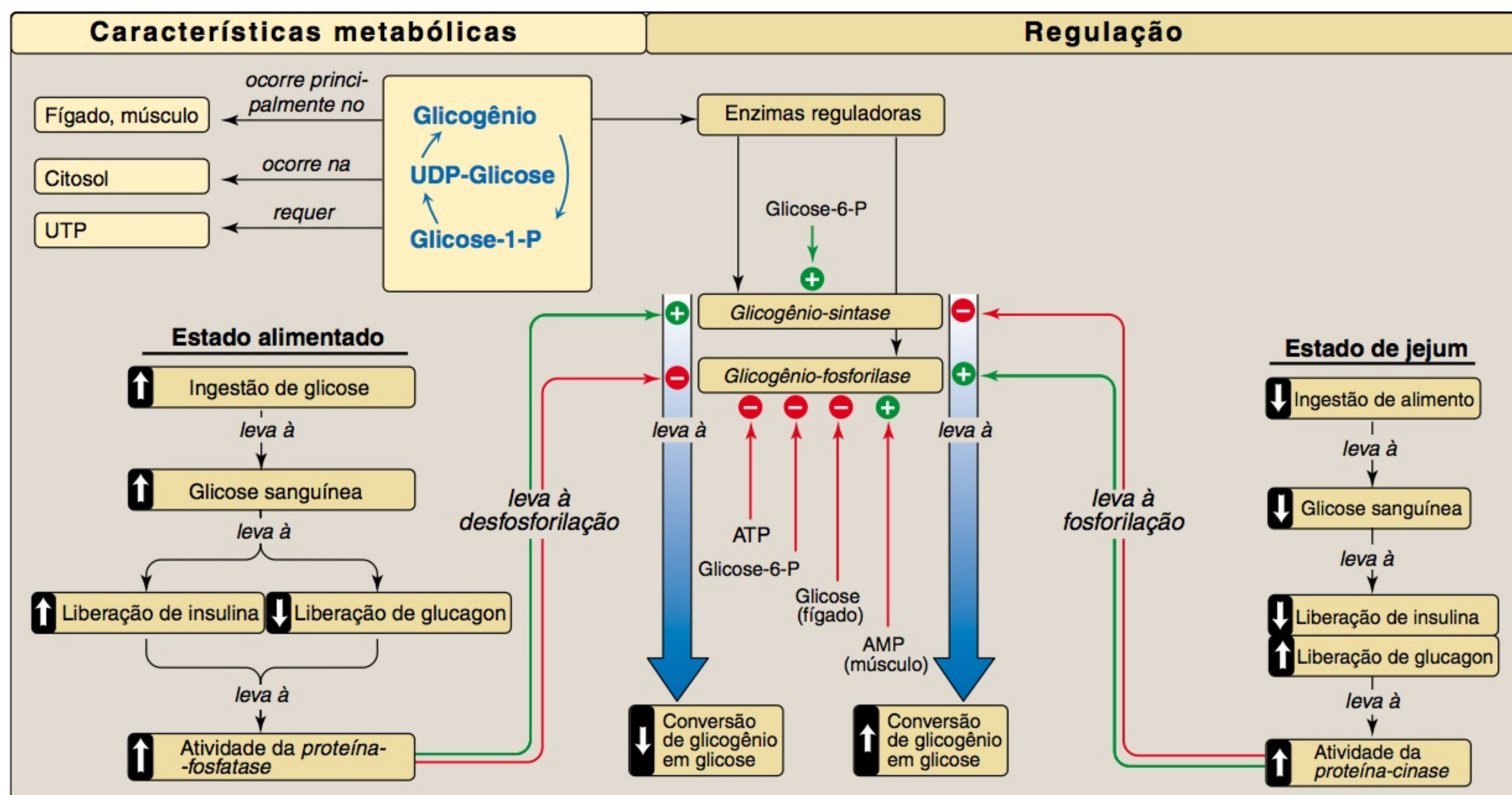


Figura 11.13

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo do glicogênio no fígado. (Nota: a **glicogênio-fosforilase** é fosforilada pela **fosforilase-cinase**, cuja forma “b” pode ser ativada por Ca^{+2} .)

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 11.1 Um menino de 2 anos foi levado ao pronto-socorro sofrendo de hipoglicemia grave no jejum. Ao exame físico, concluiu-se que ele apresentava hepatomegalia. Exames de laboratório indicaram que ele também apresentava hiperacidemia láctica e hiperuricemia. Uma biópsia do fígado mostrou que os hepatócitos continham quantidades maiores do que as normais de glicogênio, de estrutura normal. Ensaio enzimático possivelmente confirmará uma deficiência em qual das seguintes enzimas?

A. Glicogênio-sintase
 B. Glicogênio-fosforilase
 C. Glicose-6-fosfatase
 D. Amilo- $\alpha(1\rightarrow6)$ -glicosidase
 E. Amilo- $\alpha(1\rightarrow4)\rightarrow\alpha(1\rightarrow6)$ -transglicosidase

Resposta correta = C. Uma deficiência de glicose-6-fosfatase (doença de Von Gierke) impede o fígado de liberar glicose livre para o sangue, causando hipoglicemia grave no jejum, hiperacidemia láctica e hiperuricemia. A deficiência de glicogênio-fosforilase resultaria em diminuição na degradação de glicogênio, causando hipoglicemia no jejum, mas não os demais sintomas. A deficiência de glicogênio-sintase resultaria em quantidades menores de glicogênio estocado. A amilo- $\alpha(1\rightarrow6)$ -glicosidase remove resíduos glicosila únicos, unidos à cadeia de glicogênio por meio de uma ligação glicosídica $\alpha(1\rightarrow6)$. A deficiência dessa enzima resultaria em diminuição da capacidade da célula de degradar completamente as ramificações do glicogênio. A deficiência de amilo- $\alpha(1\rightarrow4)\rightarrow\alpha(1\rightarrow6)$ -transglicosidase diminuiria a capacidade da célula de formar ramificações.

- 11.2 Os hormônios adrenalina e glucagon apresentam qual dos seguintes efeitos sobre o metabolismo do glicogênio no fígado?

A. A síntese líquida de glicogênio é aumentada.
 B. A glicogênio-fosforilase é fosforilada e ativada, enquanto a glicogênio-sintase é fosforilada e inativada.
 C. Tanto a glicogênio-fosforilase quanto a glicogênio-sintase são ativadas por fosforilação, mas em taxas significativamente diferentes.
 D. A glicogênio-fosforilase é inativada por aumento dos níveis de Ca^{2+} , ao passo que a glicogênio-sintase é ativada.
 E. A proteína-cinase dependente de AMPc é ativada, ao passo que a fosforilase-cinase é inativada.

Resposta correta = B. Tanto a adrenalina quanto o glucagon aumentam a degradação do glicogênio no fígado por meio da modificação covalente (fosforilação) das enzimas-chave do metabolismo do glicogênio. A glicogênio-fosforilase é fosforilada e ativada (forma "a"), enquanto a glicogênio-sintase é fosforilada e inativada (forma "b"). A proteína-cinase A, dependente de AMPc, é ativa e fosforila (ativando) seu substrato, a fosforilase-cinase. A fosforilase-cinase a fosforila diretamente a glicogênio fosforilase, ativando-a.

- 11.3 Na contração dos músculos esqueléticos, uma súbita elevação na concentração de Ca^{2+} citosólico irá resultar em:

A. Ativação da proteína-cinase A dependente de AMPc.
 B. Dissociação da proteína-cinase A dependente de AMPc em subunidades catalíticas e reguladoras.
 C. Inativação da fosforilase-cinase, causada pela ação da proteína-fosfatase-1.
 D. Ativação direta da fosforilase-cinase b.
 E. Ativação direta da glicogênio-fosforilase b.
 F. Conversão de AMPc em AMP pela fosfodiesterase.

Resposta correta = D. O Ca^{2+} liberado do retículo sarcoplasmático durante o exercício associa-se à subunidade calmodulina da fosforilase-cinase, ativando, assim, alostericamente, a forma "b" dessa enzima. As demais alternativas não são causadas por elevação do cálcio citosólico.

- 11.4 Explique por que a hipoglicemia observada na doença de armazenamento do glicogênio tipo Ia (deficiência da glicose 6-fosfatase) é grave, enquanto a verificada na doença do Tipo VI (deficiência da fosforilase hepática) é mais leve.

Na doença tipo Ia, o fígado é incapaz de gerar glicose livre tanto por glicogenólise como por gliconeogênese, pois ambos os processos produzem glicose-6-fosfato. Na doença tipo VI, o fígado é capaz, ainda, de produzir glicose livre pela gliconeogênese; a glicogenólise, entretanto, está inibida.

Metabolismo de Monossacarídeos e Dissacarídeos

I. VISÃO GERAL

A glicose é o monossacarídeo mais consumido pelo ser humano, e o seu metabolismo tem sido muito discutido. Contudo, dois outros monossacarídeos – a frutose e a galactose – ocorrem em quantidades significativas na dieta (principalmente em dissacarídeos) e dão contribuições importantes ao metabolismo energético. Além disso, a galactose é um componente importante dos carboidratos estruturais da célula. A Figura 12.1 mostra o metabolismo da frutose e da galactose como parte das vias essenciais do metabolismo energético.

II. METABOLISMO DA FRUTOSE

Cerca de 10% das calorias contidas nas dietas ocidentais provêm da frutose (aproximadamente 55 g por dia). Sua principal fonte é o dissacarídeo sacarose, que, ao ser clivado no intestino, libera quantidades equimolares de frutose e glicose. A frutose também é encontrada como monossacarídeo livre em muitas frutas, no mel e no xarope de milho com alta concentração de frutose (tipicamente, 55% de frutose/45% de glicose), utilizado para adoçar refrigerantes e muitos alimentos. A entrada de frutose nas células não é dependente da insulina (diferentemente da glicose em certos tecidos; veja a p. 97) e, ao contrário da glicose, a frutose não promove a secreção de insulina.

A. A fosforilação da frutose

Para entrar nas vias do metabolismo intermediário, a frutose deve antes ser fosforilada (Figura 12.2). Isso pode ser realizado pela ação da *hexocinase* ou da *frutocinase* (também chamada *cetoexocinase*). A *hexocinase* fosforila a glicose na maioria das células do corpo (veja a p. 98), e várias outras hexoses podem servir como substrato para essa enzima. Entretanto, ela tem uma baixa afinidade (ou seja, um alto K_m , veja a p. 59) por frutose. Sendo assim, a menos que a concentração intracelular de frutose se torne extraordinariamente alta, a presença normal de concentrações saturantes de glicose significa que pouca quantidade de frutose está sendo convertida em frutose-6-fosfato pela *hexocinase*. A *frutocinase* proporciona

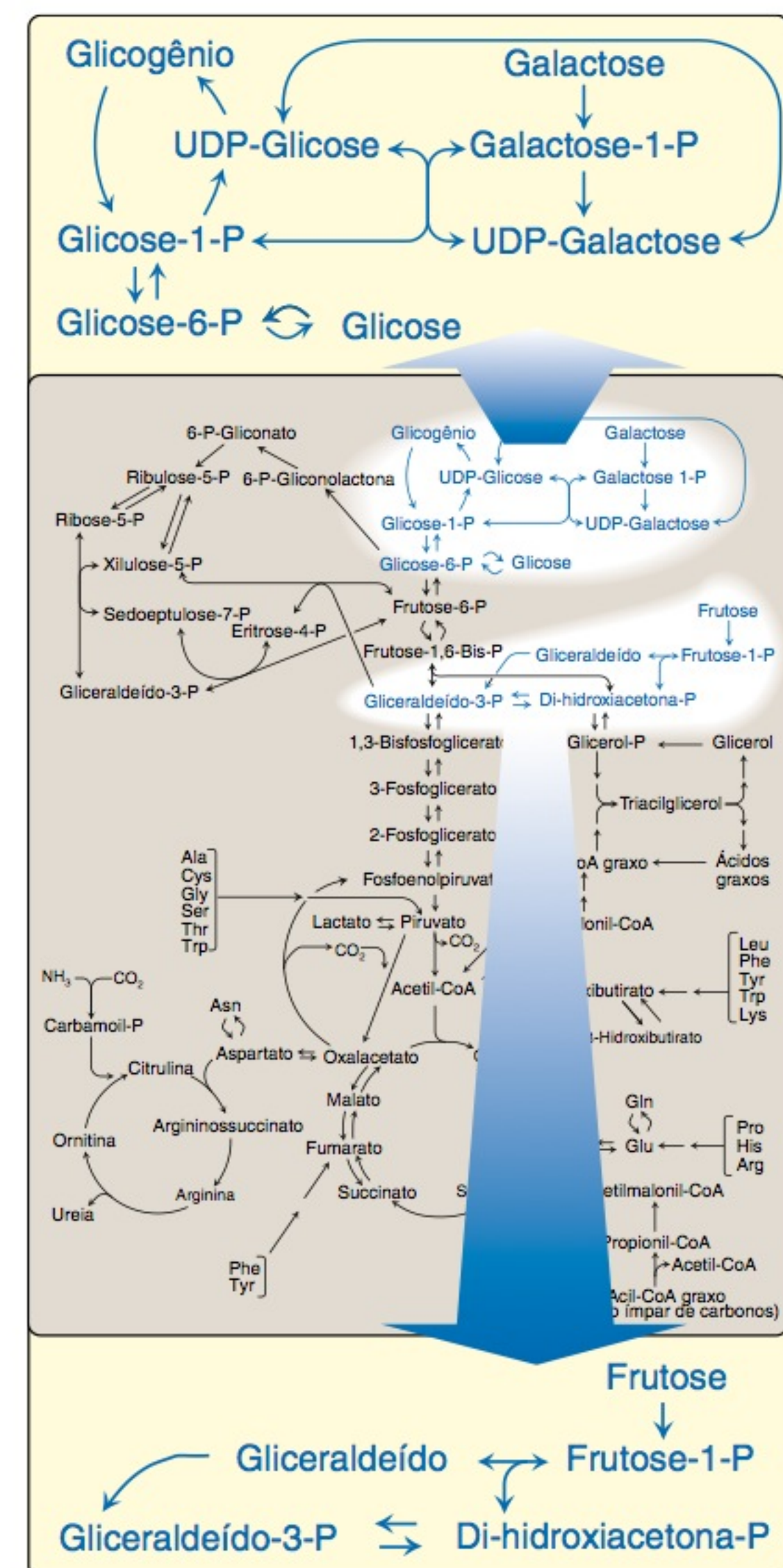
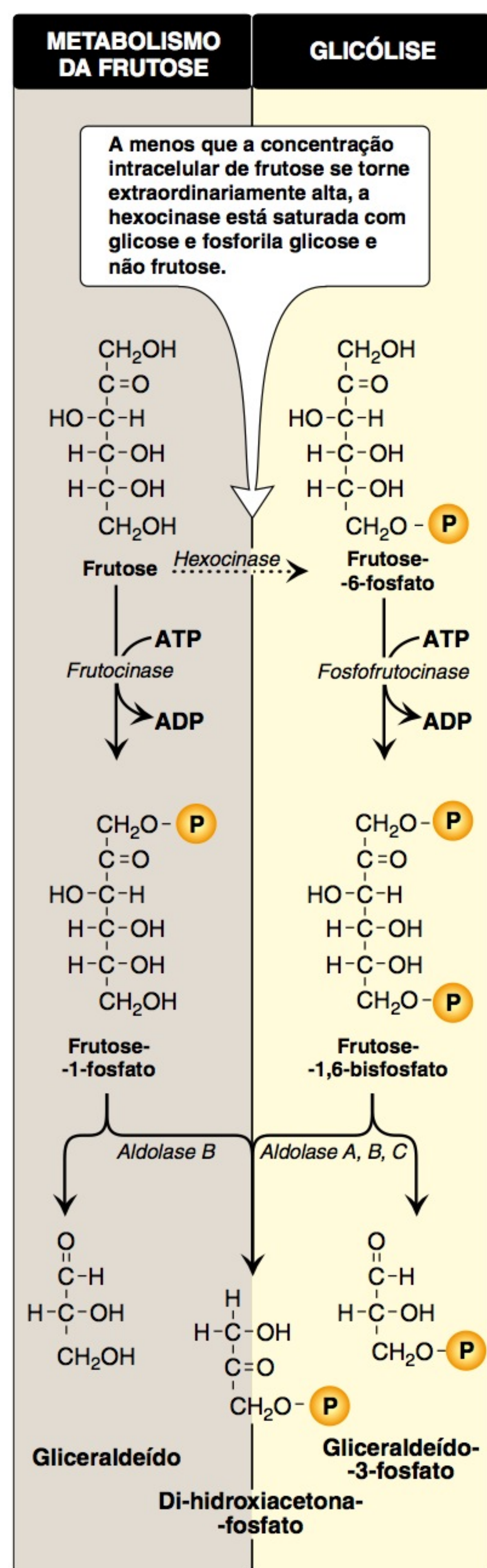


Figura 12.1

Metabolismo da galactose e da frutose, como parte das vias essenciais do metabolismo energético (veja a Figura 8.2, p. 92, para uma visão mais detalhada das reações gerais do metabolismo).

**Figura 12.2**

Fosforilação da frutose e clivagem dos seus produtos fosforilados.

o principal mecanismo para a fosforilação da frutose (Figura 12.2). Essa enzima é encontrada no fígado (que processa a maior parte da frutose da dieta), nos rins e na mucosa do intestino delgado, e converte a frutose em frutose-1-fosfato, utilizando ATP como doador de fosfato. (Nota: esses três tecidos contêm também a *aldolase B*, discutida a seguir.)

B. Clivagem da frutose-1-fosfato

A frutose-1-fosfato não é convertida em frutose-1,6-bisfosfato, como ocorre com a frutose-6-fosfato (veja a p. 99), e sim clivada pela *aldolase B* (também chamada de *frutose-1-fosfato-aldolase*), produzindo di-hidroxiacetona-fosfato (DHAP) e gliceraldeído. (Nota: humanos expressam três *aldolases*, *A*, *B* e *C*, produtos de três genes diferentes. A *aldolase A* [encontrada na maioria dos tecidos], a *aldolase B* [encontrada no fígado] e a *aldolase C* [presente no encéfalo] clivam a frutose-1,6-bisfosfato produzida durante a glicólise, resultando em DHAP e gliceraldeído-3-fosfato [veja a p. 100], mas somente a *aldolase B* cliva a frutose-1-P.) A DHAP pode entrar, diretamente, na glicólise ou na gliconeogênese, ao passo que o gliceraldeído pode ser metabolizado por diversas vias, como ilustrado na Figura 12.3.

C. Cinética do metabolismo da frutose

O metabolismo da frutose é mais rápido que o da glicose, porque as trioses formadas a partir da frutose-1-fosfato desviam da reação da *fosfofrutocinase-1* – a etapa marca-passo mais importante no controle da velocidade na glicólise (veja a p. 99).

D. Deficiências do metabolismo da frutose

A deficiência de uma das enzimas-chave necessárias para a entrada da frutose nas vias do metabolismo intermediário pode resultar tanto em uma condição benigna, como por exemplo por deficiência de *frutocinase* (frutosúria essencial), quanto em um distúrbio grave do metabolismo no fígado e nos rins, devido à deficiência da *aldolase B* (intolerância hereditária à frutose, IHF), com ocorrência estimada em 1:20.000 nascidos vivos (Figura 12.3). Os primeiros sintomas de IHF surgem quando o bebê é desmamado (veja p. 142) e começa a receber alimento contendo sacarose ou frutose. A frutose-1-fosfato se acumula, resultando em uma queda nos níveis de fosfato inorgânico (P_i) e, portanto, numa redução dos níveis de ATP. Como o ATP diminui, o AMP aumenta. Na ausência de P_i , o AMP é degradado a ácido úrico, causando hiperuricemia (e acidose láctica, veja p. 299). A diminuição da disponibilidade de ATP no fígado afeta a gliconeogênese (causando hipoglicemia com vômitos) e a síntese de proteínas (causando uma redução nos fatores de coagulação sanguíneos e de outras proteínas essenciais). A função renal também pode estar afetada. O diagnóstico de IHF pode ser realizado com base na presença de frutose na urina, por ensaio enzimático ou por testes baseados na análise do DNA (veja o Capítulo 33). Em alguns lugares, a IHF está incluída nos testes de triagem dos neonatos. Na IHF, a sacarose e o sorbitol (álcool derivado de glicose), bem como a frutose, devem ser removidos da dieta para evitar a falência hepática e a morte provável. Os indivíduos com IHF apresentam aversão a doces e, conseqüentemente, não possuem cáries dentárias.

E. Conversão da manose em frutose-6-fosfato

A manose, o epímero em C-2 da glicose (veja a p. 84), é um componente importante das glicoproteínas (veja a p. 166). A *hexocinase* fosforila a manose, produzindo manose-6-fosfato, a qual, por sua vez, é (reversivelmente) isomerizada a frutose-6-fosfato pela *fosfomanose-isomerase*. (Nota: há pouca manose nos carboidratos da dieta. A maior parte da ma-

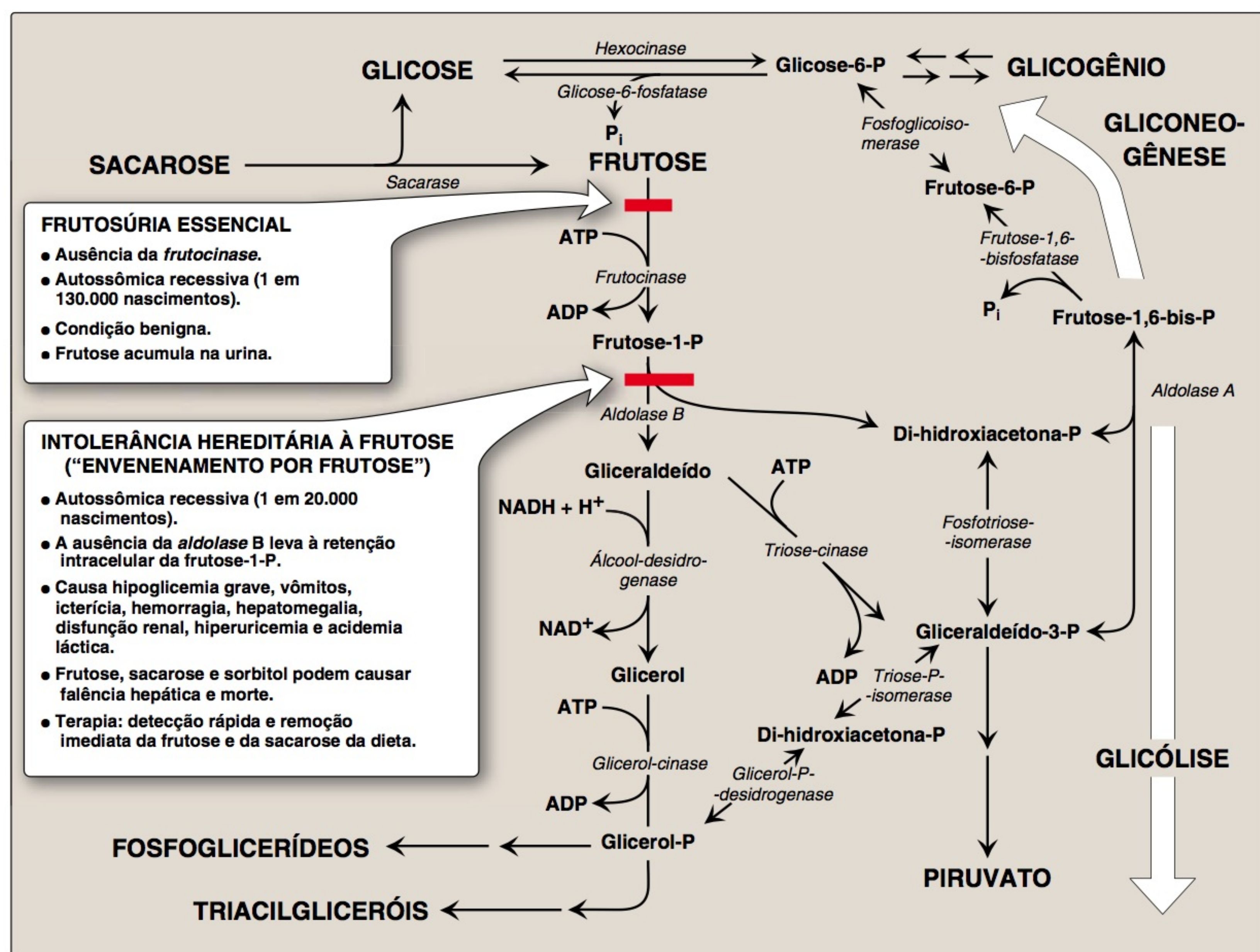


Figura 12.3

Resumo do metabolismo da frutose.

nose intracelular é sintetizada a partir da frutose ou é manose preexistente, produzida pela degradação de carboidratos estruturais e reaproveitada [salva] pela *hexocinase*.)

F. Conversão da glicose em frutose via sorbitol

A maioria dos açúcares (oses) é fosforilada rapidamente após sua entrada nas células. Desse modo, os açúcares são aprisionados dentro das células, porque os fosfatos orgânicos, sem transportadores específicos, não conseguem atravessar livremente as membranas. Um mecanismo alternativo para metabolizar um monossacarídeo é convertê-lo em poliálcool (álcool derivado do monossacarídeo) por meio da redução do grupo aldeído, produzindo assim mais um grupo hidroxila.

1. **Síntese de sorbitol.** A *aldose-redutase* reduz a glicose, produzindo sorbitol (glucitol, Figura 12.4). Essa enzima é encontrada em muitos tecidos, incluindo o cristalino, a retina, as células de Schwann dos nervos periféricos, o fígado, os rins, a placenta, os eritrócitos e as células dos ovários e da vesícula seminal. Nas células do fígado, dos ovários e das vesículas seminais há uma segunda enzima, a *sorbitol-desidrogenase*, que é capaz de oxidar o sorbitol, produzindo frutose (Figura 12.4). Essa rota com duas

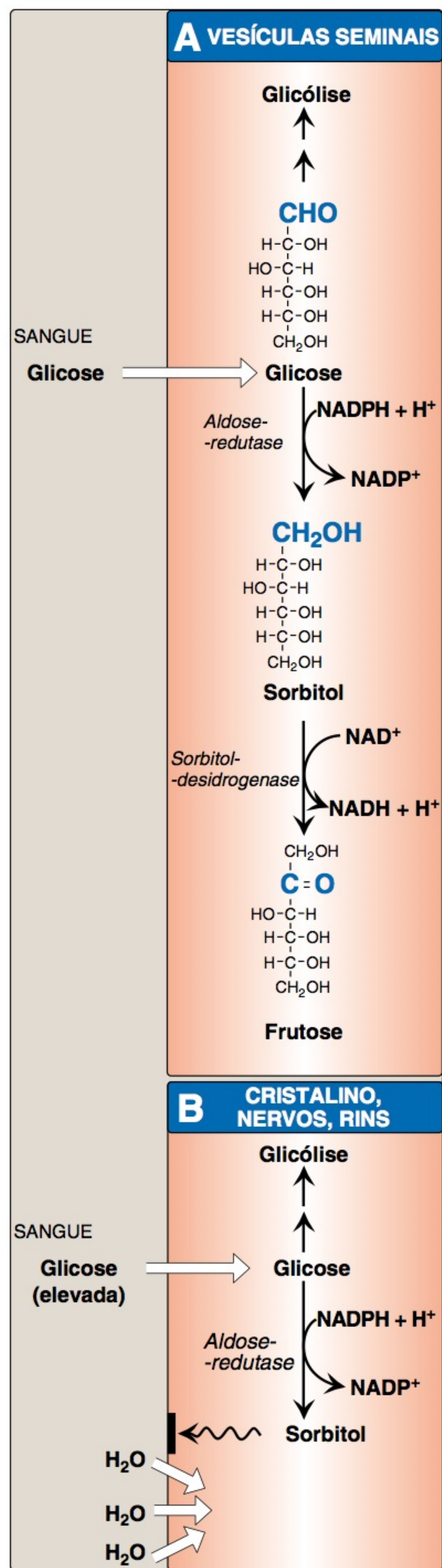


Figura 12.4
Metabolismo do sorbitol.

reações, que transforma glicose em frutose nas vesículas seminais, ocorre em benefício dos espermatozoides, pois eles utilizam a frutose como principal fonte energética glicídica. A via do sorbitol à frutose, no fígado, proporciona um mecanismo pelo qual todo o sorbitol disponível é convertido em um substrato capaz de entrar na glicólise ou na gliconeogênese.

2. **O efeito da hiperglicemia no metabolismo do sorbitol.** Não sendo a insulina necessária para a entrada de glicose nas células listadas anteriormente, grandes quantidades de glicose podem entrar nessas células em períodos de hiperglicemia, como por exemplo, no diabetes não controlado. Em resposta a concentrações elevadas de glicose intracelular e a um suprimento adequado de NADPH, a *aldose-redutase* produz um aumento significativo na quantidade de sorbitol, que não consegue atravessar de forma eficiente as membranas celulares e, portanto, permanece preso dentro da célula (Figura 12.4). Isso é exacerbado quando a *sorbitol-desidrogenase* é deficiente ou ausente, por exemplo, na retina, no cristalino, nos rins e nas células nervosas. Em consequência disso, o sorbitol acumula-se nessas células, gerando efeitos osmóticos fortes e, portanto, inchando as células devido à retenção de água. Algumas das alterações patológicas associadas ao diabetes podem ser parcialmente atribuídas a esse fenômeno, incluindo a formação de catarata, a neuropatia periférica e os problemas microvasculares que levam à nefropatia e à retinopatia (veja a p. 344 para uma discussão a respeito das complicações do diabetes).

III. METABOLISMO DA GALACTOSE

A principal fonte de galactose na alimentação é a lactose (galactosil- β -1,4-glicose), obtida do leite e dos seus derivados. (Nota: a digestão da lactose pela β -galactosidase [*lactase*] da membrana das células da mucosa intestinal foi discutida na p. 87.) Certa quantidade de galactose pode também ser obtida por degradação lisossomal de carboidratos complexos, como glicoproteínas e glicolípídeos, que são componentes importantes da membrana. Assim como a frutose, a entrada da galactose nas células não depende da insulina.

A. Fosforilação da galactose

Da mesma forma que a frutose, a galactose deve ser fosforilada antes de ser metabolizada. A maioria dos tecidos possui uma enzima específica para essa reação, a *galactocinase*, que produz galactose-1-fosfato (Figura 12.5). Como ocorre em outras reações catalisadas por cinases, o ATP é o doador de fosfato.

B. Formação de UDP-galactose

A galactose-1-fosfato não pode entrar na via glicolítica, a menos que seja antes convertida em UDP-galactose (Figura 12.5). Isso ocorre em uma reação de troca, na qual a UDP-glicose reage com a galactose-1-fosfato, produzindo UDP-galactose e glicose-1-fosfato (Figura 12.6). A enzima que catalisa essa reação é a *galactose-1-fosfato-uridil transferase* (*GALT*).

C. Uso da UDP-galactose como fonte de carbono para a glicólise ou para a gliconeogênese

Para que a UDP-galactose entre no metabolismo da glicose, ela deve ser convertida em seu epímero em C-4, a UDP-glicose, pela *UDP-hexose-4-epimerase*. Essa “nova” UDP-glicose (produzida a partir da UDP-galac-

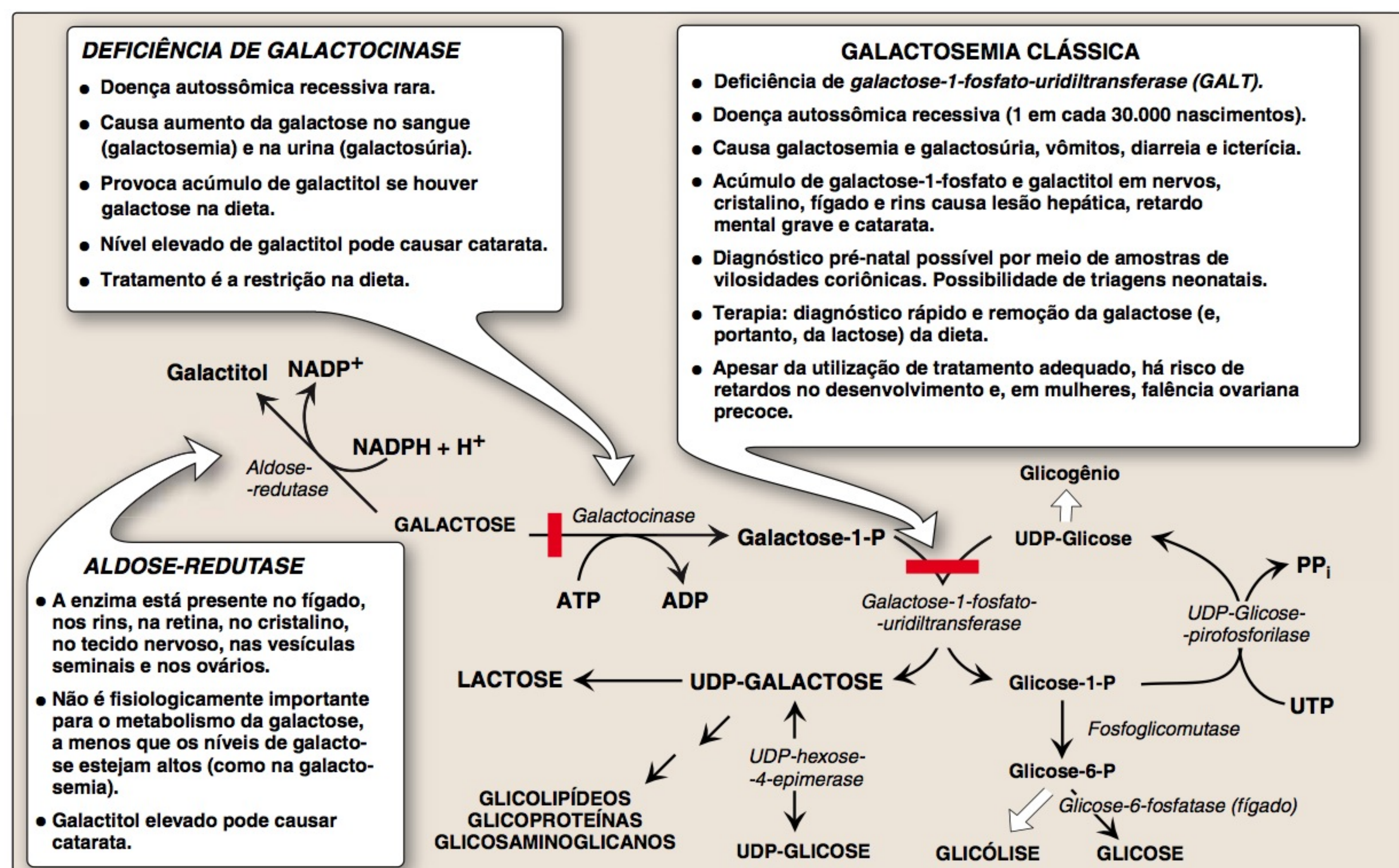


Figura 12.5

Metabolismo da galactose.

tose original) pode então participar de muitas reações biossintéticas, bem como ser usada na reação da *uridiltransferase (GALT)* descrita anteriormente (veja a Figura 12.5 para um resumo dessa interconversão). (Nota: são raras as deficiências conhecidas da *epimerase*.)

D. Papel da UDP-galactose em reações biossintéticas

A UDP-galactose pode servir como doadora de unidades de galactose em uma série de vias sintéticas, incluindo a síntese de lactose (veja a seguir), glicoproteínas (veja a p. 166), glicolipídeos (veja a p. 210) e glicosaminoglicanos (veja a p. 160). (Nota: se a galactose não for fornecida pela dieta [por exemplo, quando não puder ser liberada a partir da lactose, em razão de uma deficiência da β -galactosidase em pessoas com intolerância à lactose], todas as necessidades de UDP-galactose podem ser satisfeitas pela ação da *UDP-hexose-4-epimerase* sobre a UDP-glicose, que é produzida eficientemente a partir de glicose-1-fosfato [veja a Figura 12.5].)

E. Deficiências do metabolismo da galactose

A *GALT* encontra-se deficiente em indivíduos com galactosemia clássica (Figura 12.5). Nessa doença, há o acúmulo de galactose-1-fosfato nas células, e, em consequência disso, o acúmulo de galactose. As consequências fisiológicas são semelhantes às aquelas encontradas na intolerância hereditária à frutose (veja a p. 138), mas afetam um espectro mais amplo de tecidos. A galactose acumulada é desviada para vias secundárias, como a produção de galactitol. Essa reação é catalisada pela *aldo-se-redutase*, a mesma enzima que converte a glicose em sorbitol (veja a

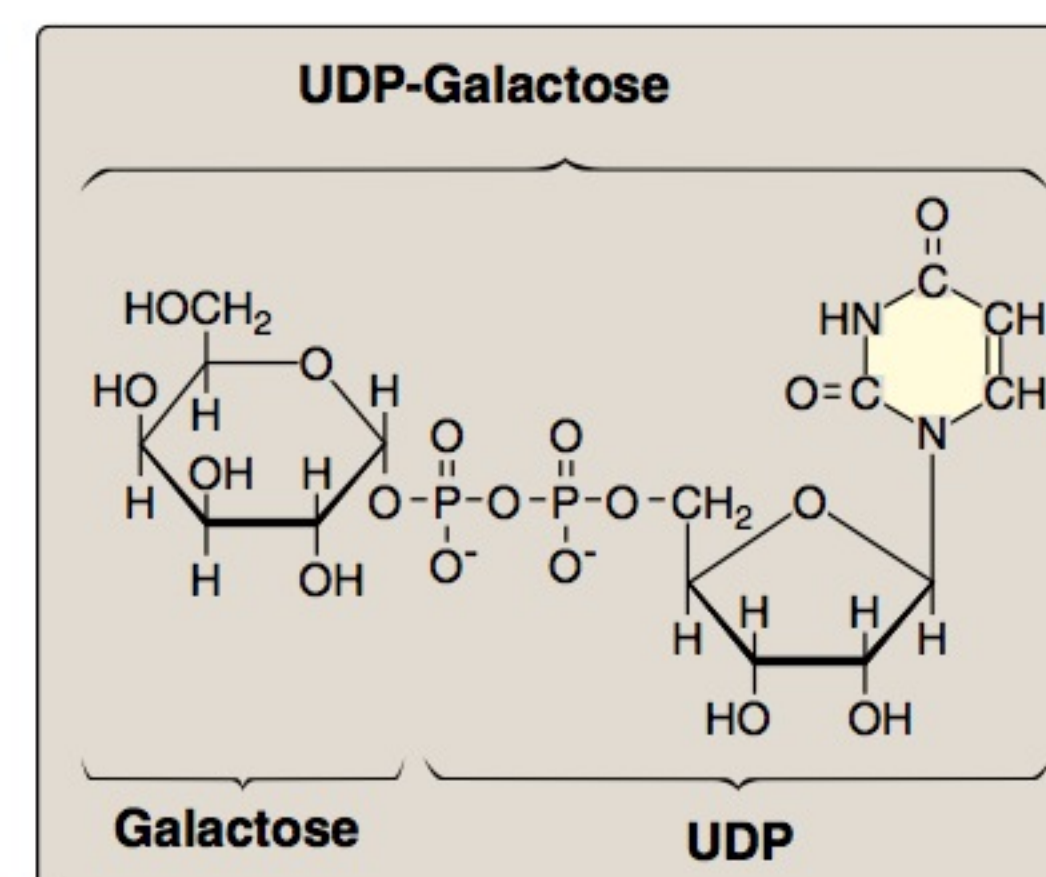


Figura 12.6

Estrutura da UDP-galactose.

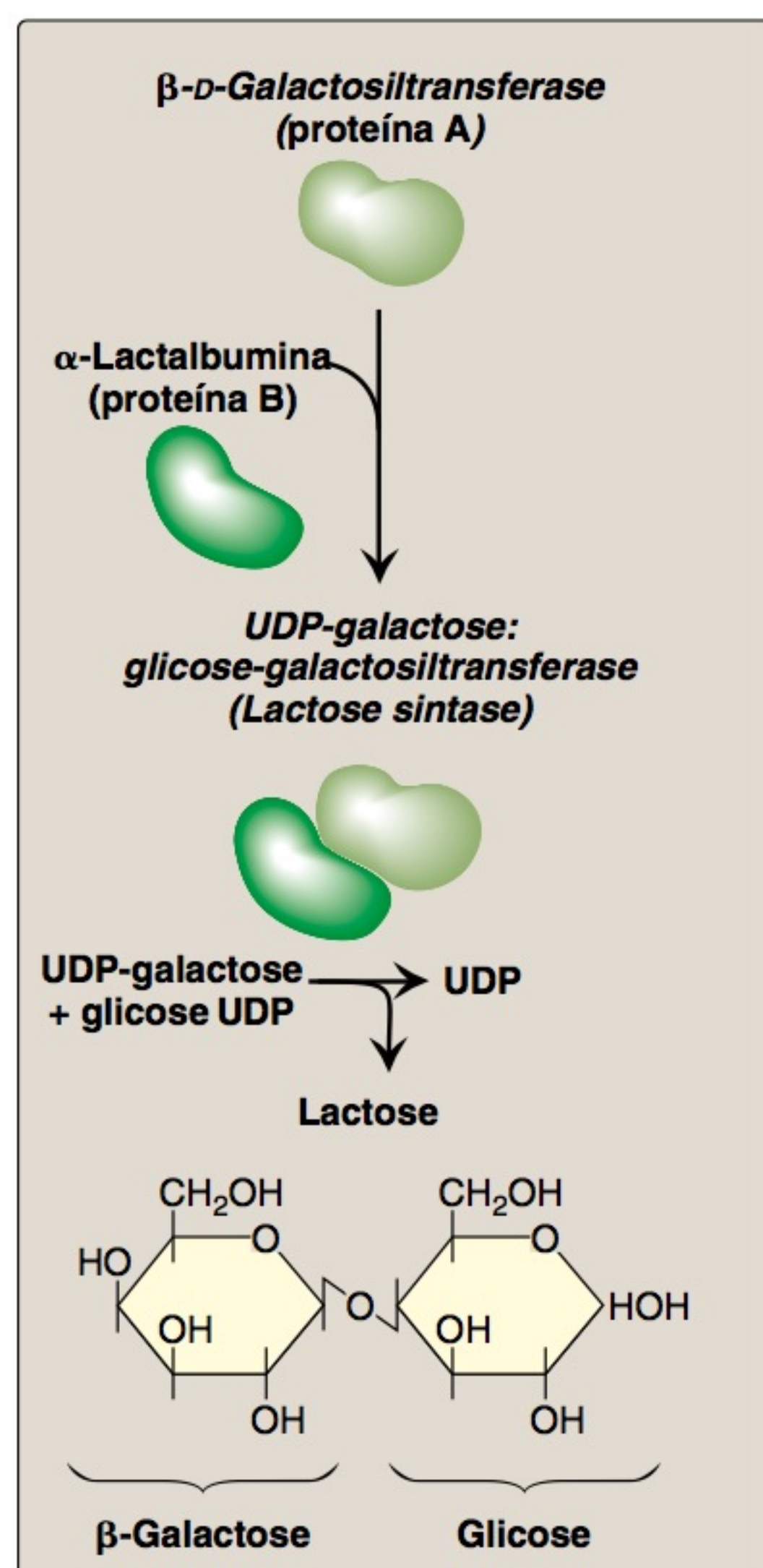


Figura 12.7
Síntese da lactose.

p. 139). (Nota: uma forma menos grave de distúrbio do metabolismo da galactose é causada pela deficiência da *galactocinase*, embora a catarata seja comum nessa condição [veja a Figura 12.5].)

IV. SÍNTESE DE LACTOSE

A lactose é um dissacarídeo que consiste em uma molécula de β-galactose unida à glicose por uma ligação β(1→4). Dessa forma, a lactose corresponde à galactosil-β(1→4)-glicose. A lactose, conhecida como o “açúcar do leite”, é produzida pelas glândulas mamárias da maioria dos mamíferos. Por isso, o leite e seus derivados são fontes de lactose na dieta. A lactose é sintetizada no aparelho de Golgi pela *lactose-sintase* (UDP-galactose:glicose-galactosiltransferase), que transfere a galactose da UDP-galactose para a glicose, liberando UDP (Figura 12.7). Essa enzima é composta de duas proteínas, A e B. A proteína A é uma β-D-galactosiltransferase e é encontrada em vários tecidos. Em outros tecidos que não as glândulas mamárias lactantes, essa enzima transfere galactose da UDP-galactose para a N-acetil-D-glicosamina, formando a mesma ligação β(1→4) encontrada na lactose e produzindo N-acetilactosamina – um componente de N-glicoproteínas estruturalmente importantes (veja a p. 167). A proteína B, por sua vez, é encontrada apenas nas glândulas mamárias lactantes. É a α-lactalbumina, e a sua síntese é estimulada pelo hormônio peptídico prolactina. A proteína B forma um complexo com a enzima, a proteína A, alterando a especificidade daquela *transferase* de modo a produzir lactose, em vez de N-acetilactosamina (Figura 12.7).

V. RESUMO DO CAPÍTULO

A principal fonte de frutose é a **sacarose**, que, ao ser hidrolisada, libera quantidades equimolares de frutose e glicose (Figura 12.8). A entrada da frutose nas células é **independente de insulina**. Primeiramente, a frutose é fosforilada a **frutose-1-fosfato** pela **frutocinase** e, a seguir, clivada pela **aldolase B**, originando **di-hidroxiacetona-fosfato** e **gliceraldeído**. Essas enzimas são encontradas no **fígado**, nos **rins** e na **mucosa do intestino delgado**. Uma **deficiência** da **frutocinase** causa uma condição benigna (**frutosúria essencial**), mas uma **deficiência** de **aldolase B** causa a **intolerância hereditária à frutose (IHF)**, na qual a **hipoglicemia grave** e a **falência hepática** levam à **morte** se a quantidade de frutose (e, portanto, de sacarose) na dieta não for rigorosamente limitada. A **manose**, componente importante das **glicoproteínas**, é fosforilada pela **hexocinase** em **manose-6-fosfato**, que é isomerizada reversivelmente a **frutose-6-fosfato** pela **fosfomanose-isomerase**. A **glicose** pode ser reduzida a **sorbitol (glucitol)** pela **aldose-redutase** em vários tecidos, incluindo **cristalino**, **retina**, **células de Schwann**, **fígado**, **rins**, **ovários** e **vesículas seminais**. Nas células do **fígado**, dos **ovários** e das **vesículas seminais**, uma segunda enzima, a **sorbitol-desidrogenase**, pode oxidar sorbitol para produzir **frutose**. A **hiperglicemia** leva ao acúmulo de sorbitol naquelas células que não possuem sorbitol-desidrogenase. Os **eventos osmóticos** resultantes causam inchaço das células e podem contribuir para a **formação de catarata**.

ta, neuropatia periférica, nefropatia e retinopatia que ocorrem no diabetes. A principal fonte de galactose na dieta é a **lactose**. A entrada da galactose nas células não é dependente de insulina. A galactose é inicialmente fosforilada pela **galactocinase** (cujas deficiências resultam em catarata), produzindo **galactose-1-fosfato**. Esse composto é convertido em **UDP-galactose** pela **galactose-1-fosfato-uridiltransferase (GALT)**, com o nucleotídeo sendo fornecido pela UDP-glicose. A **deficiência** dessa enzima causa a **galactosemia clássica**. A galactose-1-fosfato se acumula, e o excesso de galactose é convertido em **galactitol** pela **aldose-redutase**. Isso causa **danos hepáticos, retardo mental grave e catarata**. O tratamento exige a remoção da galactose (e, portanto, da lactose) da dieta. Para a UDP-galactose entrar nas rotas do metabolismo da glicose, ela deve antes ser convertida em UDP-glicose pela **UDP-hexose-4-epimerase**. Essa enzima pode também ser utilizada para produzir UDP-galactose a partir da UDP-glicose, quando a primeira for necessária para a síntese de carboidratos estruturais. A **lactose** é um dissacarídeo composto por **galactose** e por **glicose**. O leite e seus derivados são fontes de lactose na dieta. A lactose é sintetizada pela **lactose-sintase** a partir da **UDP-galactose** e da **glicose** na **glândula mamária lactante**. A enzima tem duas subunidades, a **proteína A** (que é uma **galactosil-transferase** encontrada na maioria das células, onde sintetiza **N-acetilactosamina**) e a **proteína B** (α -lactalbumina, que é encontrada apenas nas glândulas mamárias em lactação, e cuja síntese é estimulada pelo hormônio peptídico **prolactina**). Quando as duas subunidades estão presentes, a transferase produz lactose.

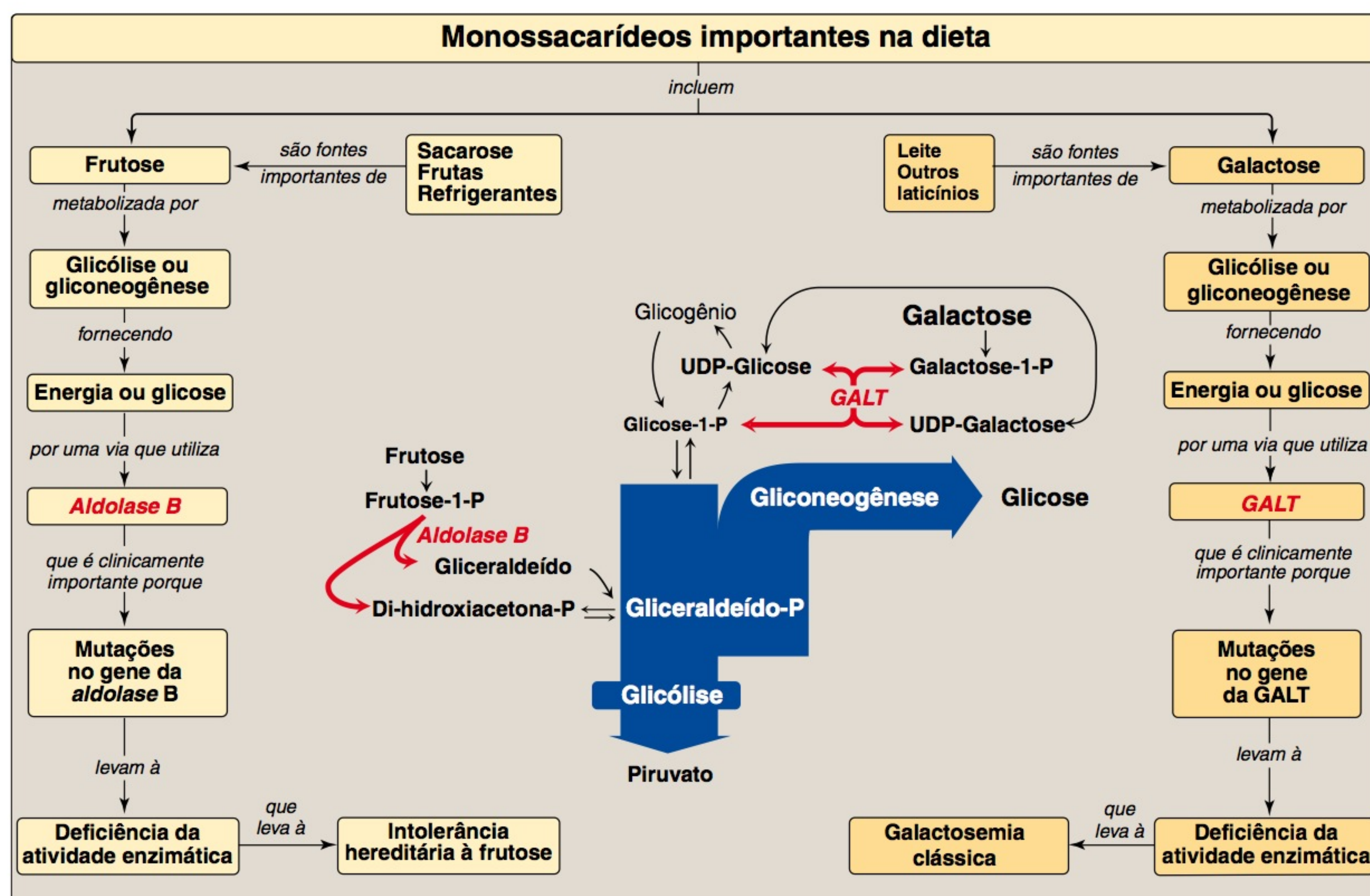


Figura 12.8

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo da frutose e da galactose. (Nota: *GALT* é *galactose-1-fosfato-uridil-transferase*.)

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 12.1 Um rato recebe uma injeção intravenosa de lactose, sem que sua metabolização seja observada. A ingestão de lactose, no entanto, conduz à rápida metabolização desse dissacarídeo. A diferença nessas observações é resultado da:

A. Presença de lactase no soro.
B. Ausência de galactocinase hepática.
C. Ausência de maltase no soro.
D. Presença de lactase no intestino.

Resposta correta = D. A lactase e a maltase são enzimas intestinais não encontradas no soro. Sendo assim, a lactose ingerida é degradada, e a injetada não é. Se a galactocinase hepática estiver ausente, a galactose da lactose não é metabolizada, mas a glicose ainda pode ser.

- 12.2 Paciente do sexo feminino com galactosemia clássica devido à deficiência de GALT é capaz de produzir lactose na glândula mamária porque:

A. A galactose livre (não fosforilada) é o aceptor da glicose transferida pela lactose-sintase na síntese de lactose.
B. A galactose pode ser produzida a partir de um metabólito da glicose por epimerização.
C. A hexocinase pode fosforilar eficientemente a galactose da dieta, produzindo galactose-1-fosfato.
D. A enzima deficiente na galactosemia é ativada por um hormônio produzido na glândula mamária.
E. A galactose pode ser produzida a partir da frutose por isomerização.

Resposta correta = B. A UDP-hexose-4-epimerase converte a UDP-glicose em UDP-galactose, fornecendo, assim, a forma adequada de galactose para a síntese de lactose. A UDP-galactose, e não a galactose livre, é a fonte da porção galactose da lactose. A galactose não é convertida em galactose-1-fosfato pela hexocinase. Galactosemia é resultado da deficiência da GALT. A isomerização de frutose em galactose não ocorre em humanos.

- 12.3 Um bebê do sexo masculino de 5 meses é levado ao médico. Ele apresenta vômitos, sudorese noturna e tremores. O histórico revela que os sintomas iniciaram após a introdução de sucos de frutas na dieta, quando foi desmamado. Ao exame físico, apresentou notável hepatomegalia. Testes realizados na urina do bebê foram positivos para açúcares redutores, mas negativos para glicose. O bebê provavelmente sofre de:

A. Deficiência de aldolase B.
B. Deficiência de frutocinase.
C. Deficiência de galactocinase.
D. Deficiência de β -galactosidase.
E. Deficiência de glicose-6-fosfatase.

Resposta correta = A. Os sintomas sugerem intolerância à frutose, uma deficiência da aldolase B. Deficiências na frutocinase ou na galactocinase resultam em condições relativamente benignas, caracterizadas por níveis elevados de frutose ou galactose no sangue e na urina. Deficiência na β -galactosidase (lactase) resulta na redução da capacidade de degradar lactose (o açúcar do leite). Uma deficiência congênita da lactase é rara e teria se apresentado bem mais cedo nesse bebê e com sintomas diferentes. A deficiência típica de lactase (hipolactasia adulta) ocorre em indivíduos mais velhos. Os sintomas da deficiência de glicose-6-fosfatase resultariam de jejum e não estariam relacionados à ingestão de suco de frutas.

- 12.4 A síntese de lactose é essencial na produção de leite pela glândula mamária. Na síntese de lactose:

A. A galactose é transferida da galactose-1-P para a glicose pela galactosiltransferase (proteína A), gerando lactose.
B. A proteína A é usada exclusivamente na síntese de lactose.
C. A α -lactalbumina (proteína B) regula a especificidade da proteína A para o carboidrato através do aumento do K_m para a glicose.
D. A expressão da proteína B é estimulada por prolactina.

Resposta correta = D. A expressão da α -lactalbumina (proteína B) é aumentada pelo hormônio prolactina. UDP-galactose é a forma usada pela galactosiltransferase (proteína A). A proteína A também está envolvida na síntese do açúcar aminado N-acetilactosamina. A proteína B aumenta a afinidade da proteína A por glicose, diminuindo o K_m .

A via das pentoses-fosfato (também chamada de desvio da hexose-monofosfato ou via do 6-fosfogliconato) ocorre no citosol da célula. Ela consiste em duas reações de oxidação irreversíveis, seguidas de uma série de interconversões reversíveis de açúcar-fosfato (Figura 13.1). Nenhum ATP é consumido ou produzido diretamente no ciclo. O carbono 1 da glicose-6-fosfato é liberado na forma de CO_2 , e dois NADPHs são produzidos para cada molécula de glicose-6-fosfato que entra na parte oxidativa da via. A velocidade e o sentido das reações reversíveis da via das pentoses-fosfato são determinados pela oferta e demanda de intermediários do ciclo. A via proporciona a maior parte de NADPH do organismo; o NADPH atua como redutor bioquímico. A via produz também a ribose-5-fosfato, necessária para a biossíntese de nucleotídeos (veja a p. 293), e proporciona um mecanismo para o uso metabólico de açúcares de cinco carbonos, obtidos da dieta ou da degradação de carboidratos estruturais do organismo.

A porção oxidativa da via das pentoses-fosfato consiste em três reações que levam à formação de ribulose-5-fosfato, CO_2 e duas moléculas de NADPH para cada molécula de glicose-6-fosfato oxidada (Figura 13.2). Essa porção da via é especialmente importante no fígado, nas glândulas mamárias lactantes e no tecido adiposo, que agem na biossíntese de ácidos graxos, a qual é dependente de NADPH (veja p. 186). Essa via também é importante nos testículos, nos ovários, na placenta e no córtex adrenal, ativos na síntese de hormônios esteroides, dependente de NADPH (veja p. 237); e nos eritrócitos, que exigem NADPH para manter a glutatona reduzida (veja na p.152).

A glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) catalisa a reação de oxidação irreversível da glicose-6-fosfato a 6-fosfogliconolactona, em uma

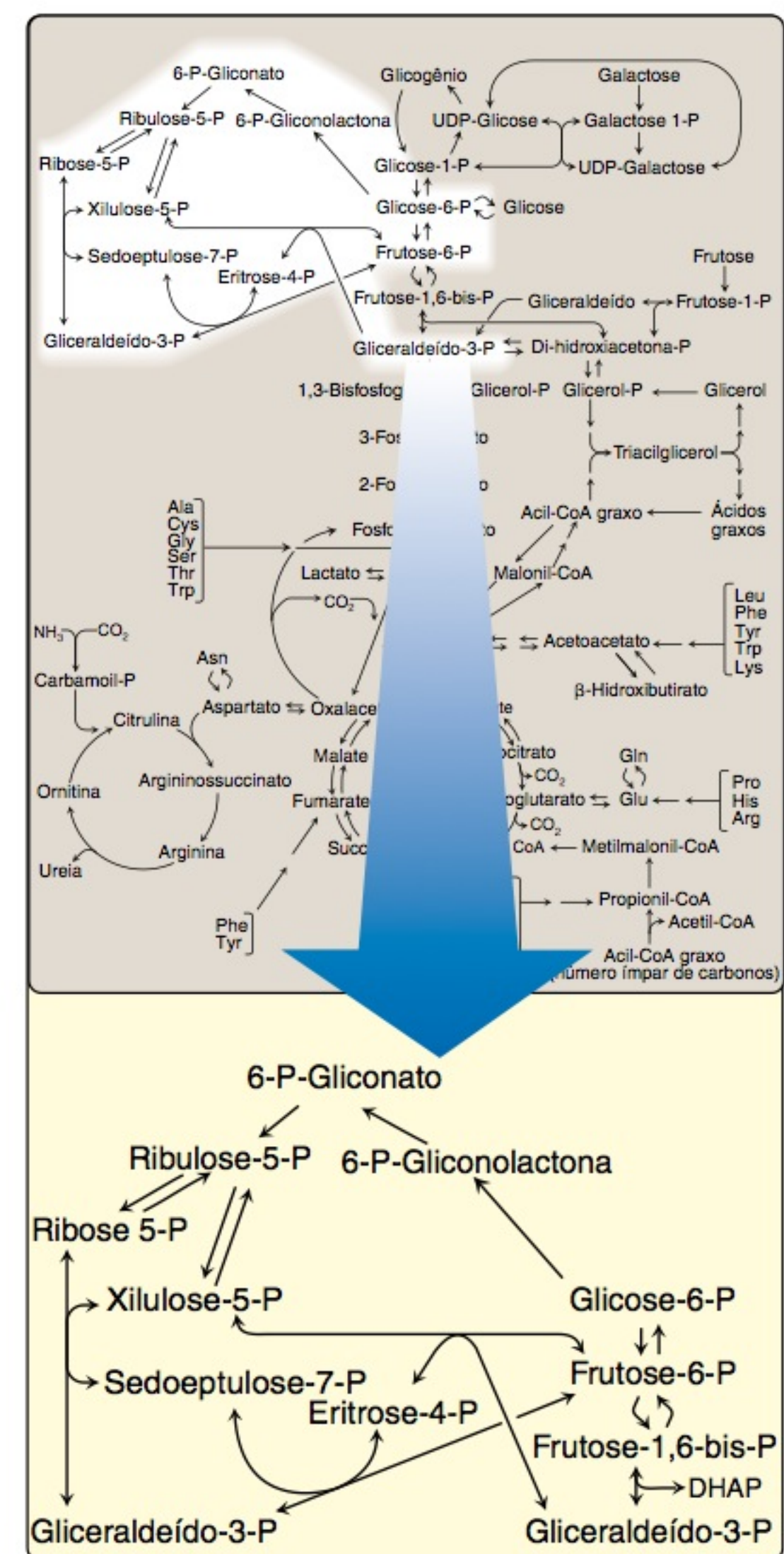


Figura 13.1

Via das pentoses-fosfato (desvio da hexose-monofosfato), mostrada como um componente do mapa metabólico (veja a Figura 8.2, p. 92, para uma visão mais detalhada da via metabólica).

reação que usa especificamente NADP^+ como coenzima. A via das pentoses-fosfato é regulada basicamente na reação da *glicose-6-fosfato-desidrogenase*. O NADPH é um potente inibidor competitivo da enzima e, na maioria das condições metabólicas, a relação $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ é suficientemente alta para inibir de forma substancial a atividade da enzima. Entretanto, com o aumento da demanda por NADPH , a relação $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ diminui, e o fluxo ao longo do ciclo aumenta, devido à maior atividade da *glicose-6-fosfato-desidrogenase*. A insulina aumenta a expressão do gene da *G6PD*, e o fluxo pela via cresce no estado alimentado.

B. Formação da ribulose-5-fosfato

A 6-fosfogliconolactona é hidrolisada pela *6-fosfogliconolactona-hidrolase*. A reação é irreversível e não limitante da velocidade da via. A subsequente descarboxilação oxidativa do 6-fosfogliconato é catalisada pela *6-fosfogliconato-desidrogenase*. Essa reação irreversível produz uma pentose-fosfato (ribulose-5-fosfato), CO_2 (do carbono 1 da glicose) e uma segunda molécula de NADPH (veja a Figura 13.2).

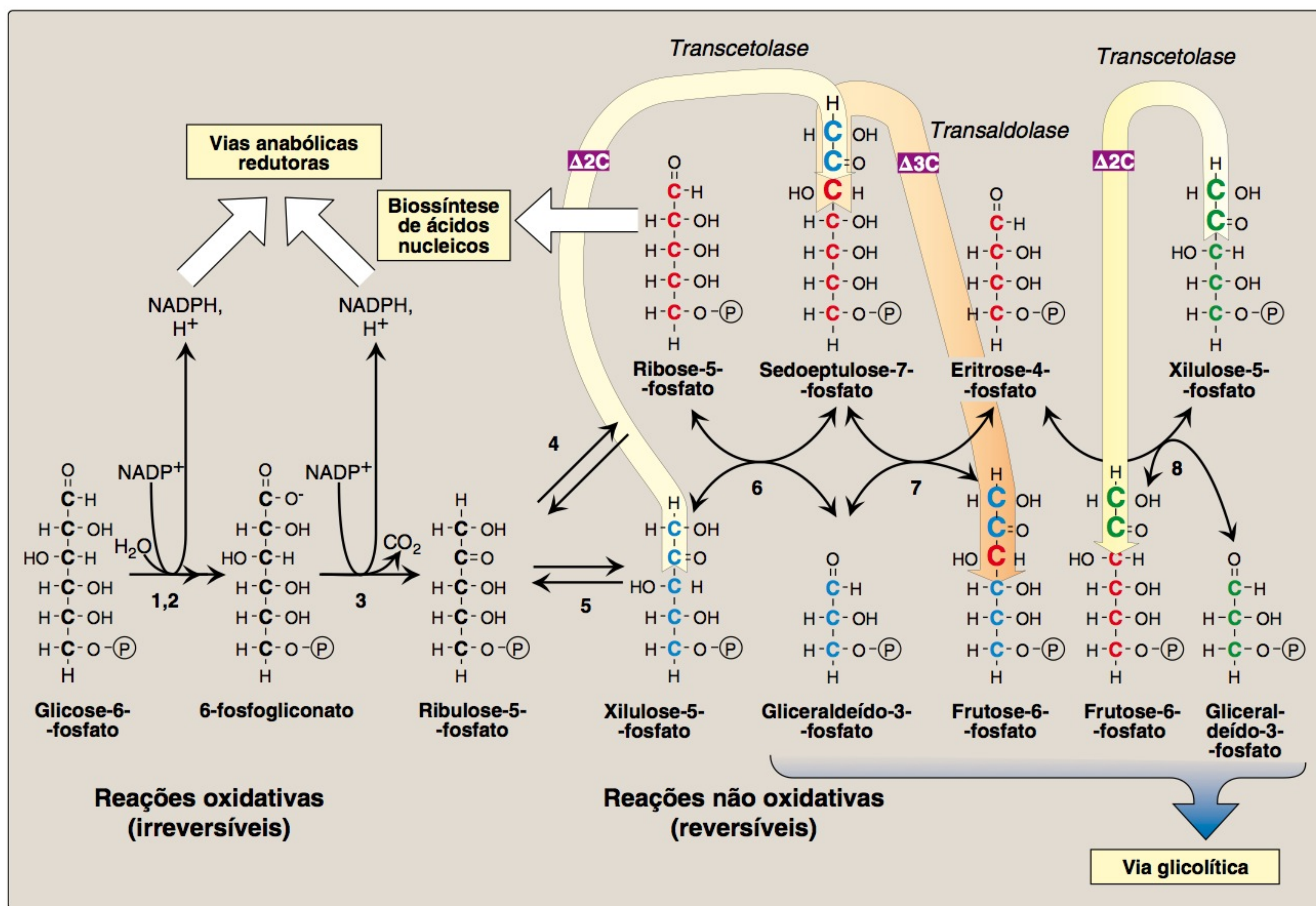


Figura 13.2

Reações da via das *pentoses-fosfato*. As enzimas numeradas acima são 1,2) *glicose-6-fosfato-desidrogenase* e 6-*fosfogliconolactona-hidrolase*, 3) *6-fosfogliconato-desidrogenase*, 4) *ribose-5-fosfato-isomerase*, 5) *fosfopentose-epimerase*, 6) e 8) *transcetolase* (coenzima: tiamina-pirofosfato) e 7) *transaldolase*. $\Delta 2\text{C}$ = dois carbonos são transferidos nas reações da *transcetolase*; $\Delta 3\text{C}$ = três carbonos são transferidos na reação da *transaldolase*.

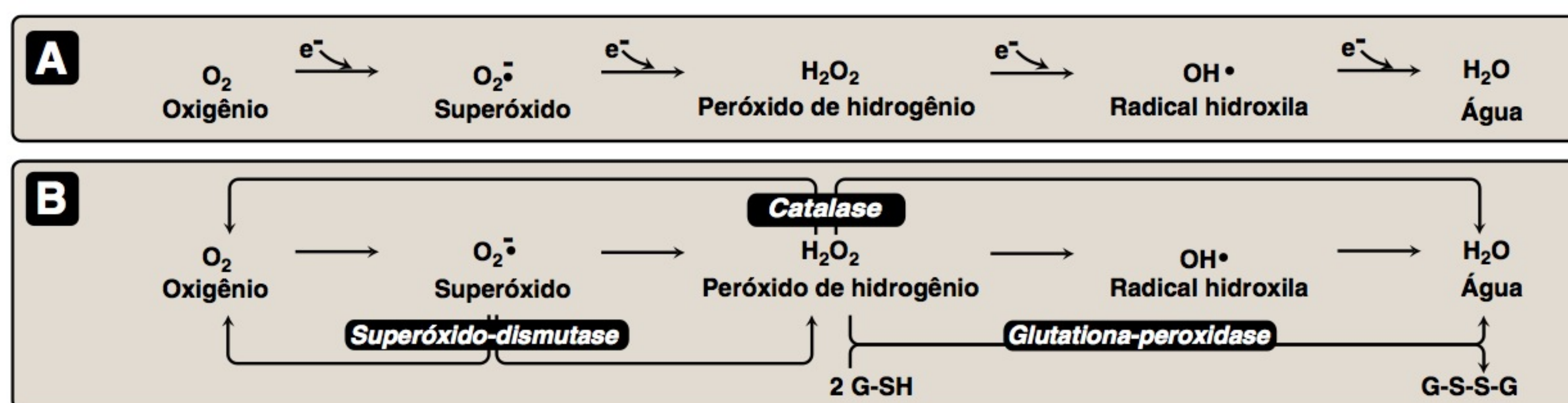


Figura 13.5

A. Formação dos intermediários reativos a partir do oxigênio molecular. B. Ações de enzimas antioxidantes. G-SH = glutathione reduzida; G-S-S-G = glutathione oxidada.

B. Redução do peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é um membro da família das espécies reativas de oxigênio (EROs) formadas a partir da redução parcial do oxigênio molecular (Figura 13.5A). Esses compostos são formados continuamente como subprodutos do metabolismo aeróbio, por meio de reações com drogas e toxinas do ambiente, ou quando o nível de antioxidantes é reduzido, situações que criam condições para o estresse oxidativo. Os intermediários altamente reativos de oxigênio podem causar danos químicos graves ao DNA, às proteínas e aos lipídeos insaturados, e uma possível morte celular. Essas espécies reativas de oxigênio têm sido implicadas em uma série de processos patológicos, incluindo danos relacionados à reperfusão, câncer, doenças inflamatórias e envelhecimento. A célula possui diversos mecanismos protetores que minimizam o potencial tóxico desses compostos.

- Enzimas que catalisam reações antioxidantes.** A glutathione reduzida, um tripeptídeo tiólico (γ -glutamylcysteinylglycine) presente na maioria das células, pode detoxificar, quimicamente, o peróxido de hidrogênio (Figura 13.5B). Essa reação, catalisada pela *glutathione-peroxidase*, dependente de selênio, forma glutathione oxidada, a qual não mais apresenta propriedades protetoras. A célula regenera a glutathione reduzida em uma reação catalisada pela *glutathione-reductase*, usando NADPH como fonte de equivalentes redutores. Sendo assim, o NADPH proporciona, indiretamente, elétrons para a redução do peróxido de hidrogênio (Figura 13.6). (Nota: os eritrócitos são totalmente dependentes da via das pentoses-fosfato para seu suprimento de NADPH, pois, diferentemente da maioria dos outros tipos celulares, não têm uma fonte alternativa dessa coenzima essencial.) Outras enzimas, como a *superóxido-dismutase* e a *catalase*, catalisam a conversão de outros intermediários tóxicos de oxigênio em produtos inofensivos (Figura 13.5B). Como grupo, essas enzimas servem como sistema de defesa contra os efeitos tóxicos das espécies reativas de oxigênio.

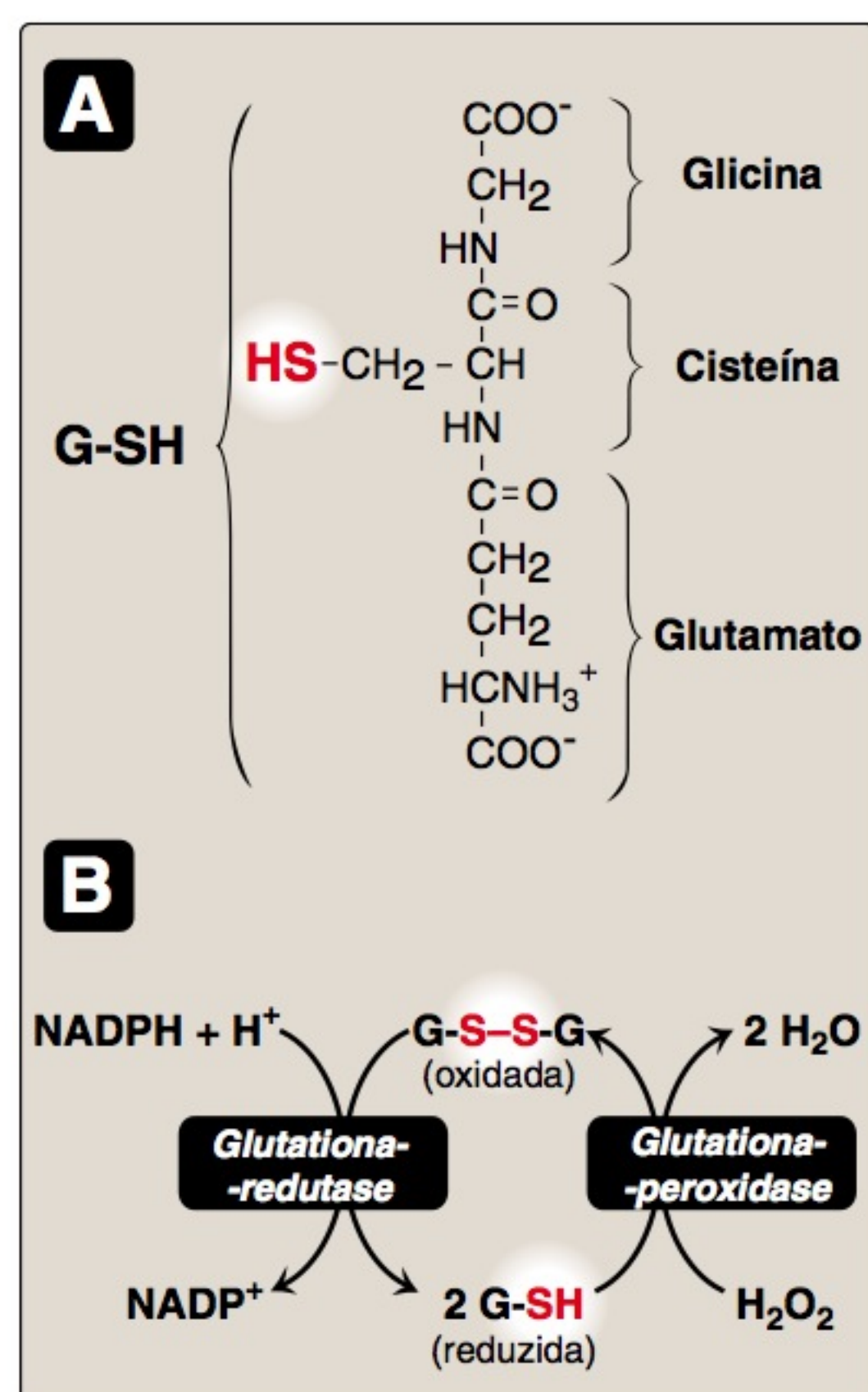


Figura 13.6

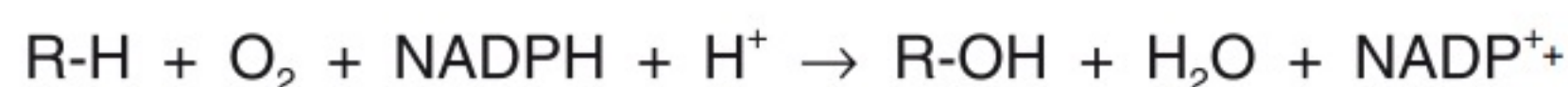
A. Estrutura da glutathione (G-SH). (Nota: o glutamato é unido à cisteína por meio de uma γ -carboxila, em vez de uma α -carboxila.) B. Redução do peróxido de hidrogênio por NADPH, mediada pela glutathione.

- Substâncias antioxidantes.** Alguns agentes redutores intracelulares, como o ascorbato (veja a p. 377), a vitamina E (veja a p. 391) e o β -caroteno (veja a p. 382), conseguem reduzir e, assim, detoxificar intermediários do oxigênio em laboratório. O consumo de alimentos ricos nesses compostos antioxidantes tem sido correlacionado com redução dos riscos para certos tipos de cân-

cer e com redução na frequência de outros problemas crônicos de saúde. Sendo assim, é tentador especular que os efeitos desses compostos refletem, em parte, a sua capacidade de combater os efeitos tóxicos dos intermediários de oxigênio. Entretanto, testes clínicos com antioxidantes como suplementos alimentares não mostraram efeitos benéficos claros. No caso da suplementação alimentar com β -caroteno, a incidência de câncer de pulmão entre fumantes aumentou, em vez de diminuir. Portanto, os efeitos positivos de frutas e legumes sobre a saúde provavelmente refletem uma interação complexa entre muitos compostos de ocorrência natural, o que ainda não foi reproduzido pelo consumo de compostos antioxidantes isolados.

C. Sistema citocromo P450-monoxigenase

As *monoxigenases* (*oxidases de função mista*) incorporam um átomo do oxigênio molecular no substrato (criando um grupo hidroxila), enquanto o outro átomo é reduzido à água. No sistema *citocromo P450-monoxigenase*, o NADPH proporciona os equivalentes redutores necessários para essa série de reações (Figura 13.7). Esse sistema cumpre funções distintas em dois locais separados nas células. A reação geral catalisada por uma enzima citocromo P450 é:



onde R pode ser um esteroide, um fármaco ou outra substância química. (Nota: os citocromos P450 [CYP] são, na verdade, uma superfamília de enzimas *monoxigenase* relacionadas, que contêm grupo heme e que participam de uma ampla variedade de reações. O nome P450 reflete a absorvância a 450 nm pela proteína.)

1. **Sistema mitocondrial.** A função do sistema *citocromo P450-monoxigenase* mitocondrial, associado à membrana interna da mitocôndria, é a biossíntese de hormônios esteroides. Nos tecidos esteroideogênicos, como a placenta, os ovários, os testículos e o córtex adrenal, esse sistema é usado para hidroxilar intermediários da conversão de colesterol em hormônios esteroides, processo que torna esses compostos hidrofóbicos mais solúveis em água (veja a p. 237). O fígado usa esse sistema na síntese de ácidos biliares (veja a p. 224) e na hidroxilação de colesterciferol a 25-hidroxicolecterciferol (vitamina D₃, veja a p. 386), e o rim o utiliza para hidroxilar a vitamina D₃, produzindo a sua forma biologicamente ativa 1,25-di-hidroxilada.
2. **Sistema microssomal.** Uma função extremamente importante do sistema *citocromo P450-monoxigenase* microssomal, que está associado às membranas do retículo endoplasmático liso (especialmente no fígado), é a destoxificação de compostos estranhos ao organismo (xenobióticos). Entre eles, estão diversos fármacos e uma variedade de poluentes, incluindo produtos do petróleo e pesticidas. O sistema *citocromo P450-monoxigenase microssomal* pode ser usado para hidroxilar essas toxinas, utilizando novamente o NADPH como fonte de equivalentes redutores. Há dois propósitos para essas modificações: em primeiro lugar, podem ativar ou inativar um fármaco; em segundo lugar, podem tornar um composto tóxico mais solúvel, facilitando, assim, sua excreção na urina ou nas fezes. Frequentemente, contudo, o novo grupo hidroxila ser-

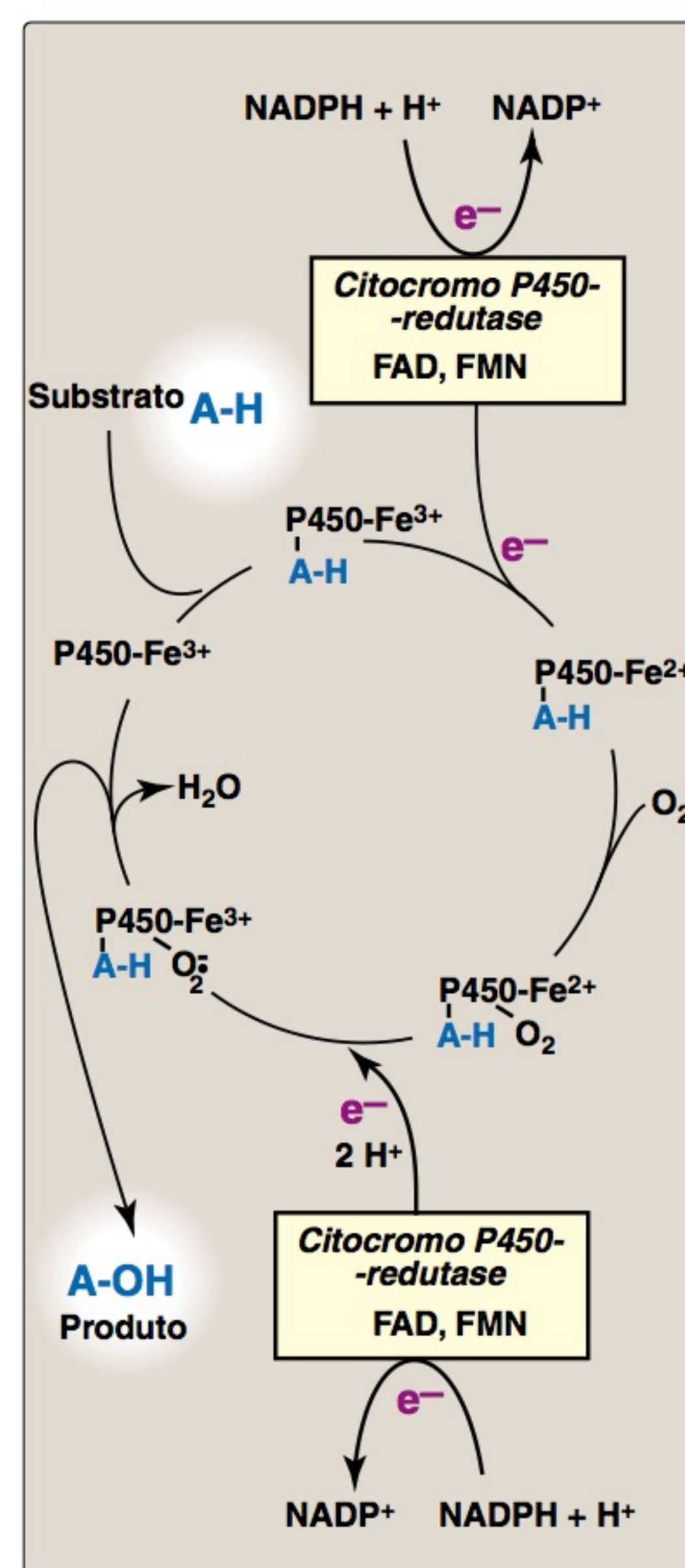


Figura 13.7

Ciclo do sistema citocromo *P450-monoxigenase*. Os elétrons fluem do NADPH para o FAD e para o FMN e, a seguir, para o ferro do núcleo heme.

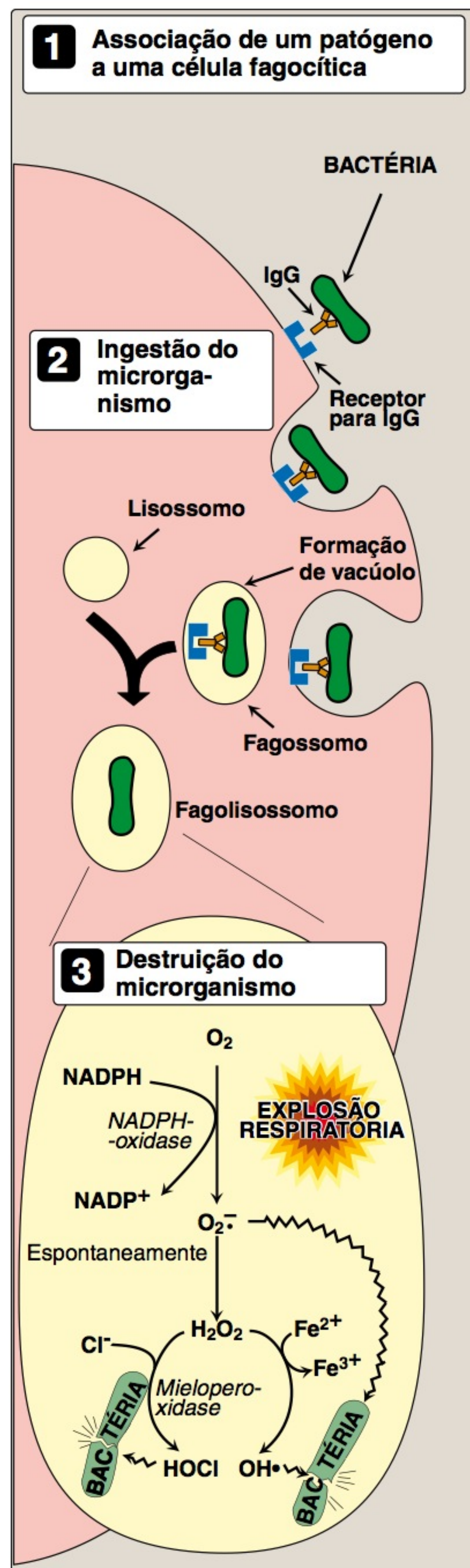


Figura 13.8

Fagocitose e a via dependente de oxigênio para a morte de micróbios. IgG = anticorpo imunoglobulina G.

virá como sítio para a conjugação com um composto polar, como o ácido glicurônico (veja a p. 161), o que aumentará significativamente a solubilidade do composto.

D. Fagocitose por leucócitos

Fagocitose é a ingestão, efetuada por endocitose mediada por receptores, de microrganismos, partículas estranhas e fragmentos celulares, realizada por células como neutrófilos e macrófagos (monócitos). É um importante mecanismo de defesa do organismo, especialmente em infecções bacterianas. Os neutrófilos e os monócitos são dotados de mecanismos para matar bactérias. Esses mecanismos podem ser tanto independentes quanto dependentes de oxigênio.

1. **Mecanismos independentes de oxigênio.** Os sistemas independentes de oxigênio utilizam mudanças de pH nos fagolisossomos e enzimas lisossomais para destruir os patógenos.
2. **Sistemas dependentes de oxigênio.** Os mecanismos dependentes de oxigênio incluem as enzimas *NADPH-oxidase* e *mieloperoxidase (MPO)*, que atuam juntas para eliminar bactérias (Figura 13.8). Em termos gerais, o sistema *MPO* é o mais potente dos mecanismos bactericidas. Uma bactéria invasora é reconhecida pelo sistema imunológico e atacada por anticorpos, que a ligam a um receptor em uma célula fagocítica. Depois de ocorrer a internalização do microrganismo, a *NADPH-oxidase*, localizada na membrana celular dos leucócitos, é ativada e reduz o oxigênio molecular do tecido ao redor a superóxido ($O_2^{\bullet-}$), um radical livre. O rápido consumo do oxigênio molecular que acompanha a formação do superóxido é conhecido como explosão respiratória. (Nota: a *NADPH-oxidase* ativa é um complexo associado à membrana, contendo um flavocitocromo e peptídeos adicionais que se translocam do citoplasma em função da ativação do leucócito. Elétrons movem-se do NADPH para o O_2 , via FAD e heme, gerando $O_2^{\bullet-}$. Deficiências genéticas na *NADPH-oxidase* causam a doença granulomatose crônica [DGC], que se caracteriza por infecções graves e persistentes e pela formação de granulomas [áreas nodulares de inflamação] que sequestram as bactérias que não foram destruídas.) A seguir, o superóxido é convertido, espontaneamente ou via *superóxido-dismutase (SOD)*, em peróxido de hidrogênio (uma ERO). Na presença de *MPO*, uma enzima lisossomal que contém heme presente dentro do fagolisossomo, o peróxido mais íons cloreto são convertidos em ácido hipocloroso (HClO, o principal componente da água sanitária doméstica), que mata as bactérias. O peróxido também pode ser parcialmente reduzido a radical hidroxila ($OH^{\bullet}$), uma ERO, ou totalmente reduzido à água pela *catalase* ou pela *glutathione-peroxidase*. (Nota: deficiência de *MPO* não determina aumento na suscetibilidade a infecções porque o peróxido da *NADPH-oxidase* é bactericida.)

E. Síntese do óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é reconhecido como mediador em um amplo conjunto de sistemas biológicos. O NO é o fator relaxante derivado do endotélio, que causa vasodilatação ao relaxar os músculos lisos dos vasos. Além disso, o NO age como neurotransmissor, previne a agregação plaquetária e cumpre papel essencial na função do macrófago. (Nota: o NO é um radical livre gasoso, frequentemente confundido com o óxido nítrico-)

so [N₂O], o “gás hilariante”, usado como anestésico e quimicamente estável.) O NO tem meia-vida muito curta nos tecidos (3 a 10 segundos), porque reage com o oxigênio e com o superóxido, sendo convertido em nitratos e nitritos, incluindo peroxinitrito (O=NOO⁻), uma espécie reativa de nitrogênio (ERN).

- Síntese de NO.** A arginina, o O₂ e o NADPH são substratos para a *NO-sintase* citosólica (Figura 13.9). A flavina mononucleotídeo (FMN), a flavina adenina dinucleotídeo (FAD), o heme e a tetraidrobiopterina (veja a p. 268) são coenzimas dessa enzima, sendo o NO e a citrulina os produtos da reação. Três *NO-sintases* (*NOS*) já foram identificadas. Duas são enzimas constitutivas (sintetizadas a uma velocidade constante, independentemente da demanda fisiológica) e dependentes de Ca²⁺-calmodulina. Encontradas basicamente no endotélio (*eNOS*) e no tecido neural (*nNOS*), produzem constantemente baixos níveis de NO. Uma enzima induzível e independente de Ca²⁺ (*iNOS*) pode ser expressa em muitas células, incluindo hepatócitos, macrófagos, monócitos e neutrófilos. Os indutores específicos da *iNOS* variam com o tipo celular e incluem o fator de necrose tumoral α , endotoxinas bacterianas e citocinas inflamatórias. Tem sido demonstrado que esses compostos promovem a síntese de *iNOS*, o que pode resultar na produção de grandes quantidades de NO durante horas ou até mesmo dias.
- Ações do NO no endotélio vascular.** O NO é um importante mediador no controle do tônus dos músculos lisos dos vasos. O NO é sintetizado pela *eNOS* nas células endoteliais, difundindo-se para o músculo liso dos vasos, onde ativa a forma citosólica da *guanilato-ciclase* (também conhecida como *guanilil-ciclase*), formando GMPc. (Nota: essa reação é análoga à formação do AMPc pela *adenilato-ciclase* [veja a p. 94], exceto pelo fato de que a *guanilato-ciclase* não é associada à membrana.) O aumento resultante do GMPc causa ativação da *proteína-quinase G*, que fosforila canais de Ca²⁺, determinando um decréscimo da entrada de Ca²⁺ nas células dos músculos lisos. Isso diminui a ação ativadora da Ca²⁺-calmodulina sobre a *cinase da cadeia leve da miosina*, diminuindo assim a contração do músculo liso e favorecendo o relaxamento. Os nitratos vasodilatadores, como a nitroglicerina e o nitroprussiato, são metabolizados a óxido nítrico, o que causa relaxamento da musculatura lisa dos vasos e, portanto, diminui a pressão sanguínea. Dessa forma, o NO pode ser considerado um nitrovasodilatador endógeno. (Nota: citrato sildenafil, usado no tratamento da disfunção erétil, inibe a *fosfodiesterase* que inativa o GMPc.)
- A função do NO como mediador da atividade bactericida dos macrófagos.** Nos macrófagos, a atividade da *iNOS* é normalmente baixa, mas a síntese da enzima é bastante estimulada por lipopolissacarídeos bacterianos e pela liberação de γ -interferon, em resposta à infecção. Os macrófagos ativados formam radicais superóxido (veja a p. 150) que se combinam com o NO para formar intermediários, que se decompõem formando o radical OH•, altamente bactericida.
- Outras funções do NO.** O NO é um potente inibidor da agregação plaquetária (ao ativar a via do GMPc). Ele também tem sido caracterizado como um neurotransmissor no encéfalo.

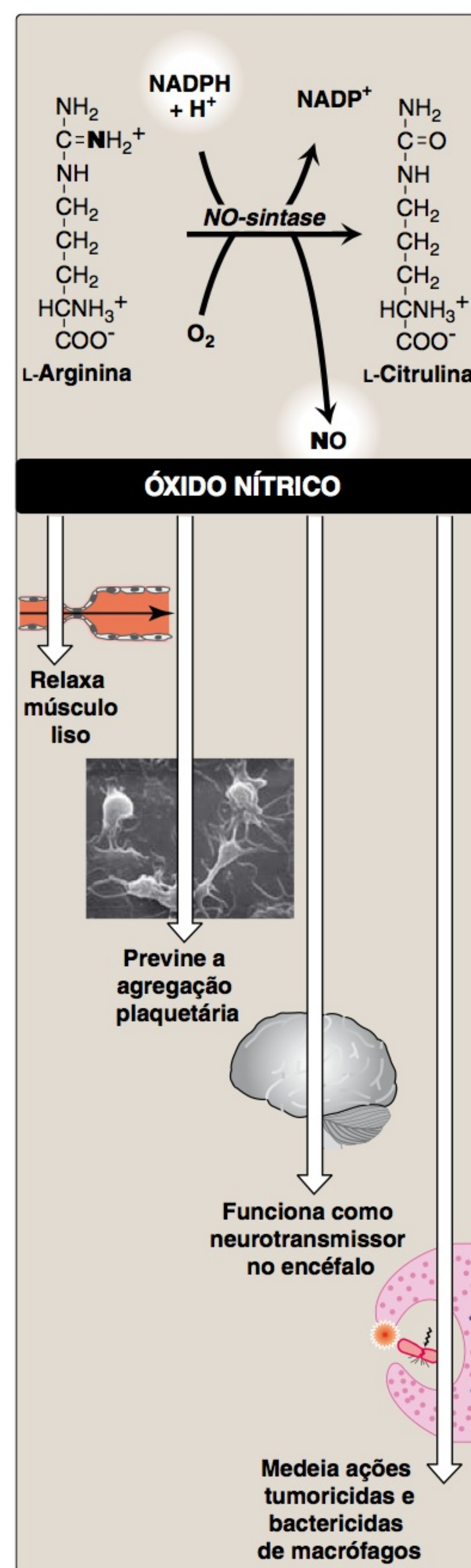


Figura 13.9

Síntese e algumas das ações do óxido nítrico. (Nota: FMN, FAD, heme e tetraidrobiopterina são coenzimas adicionais requeridas pela NOS.)

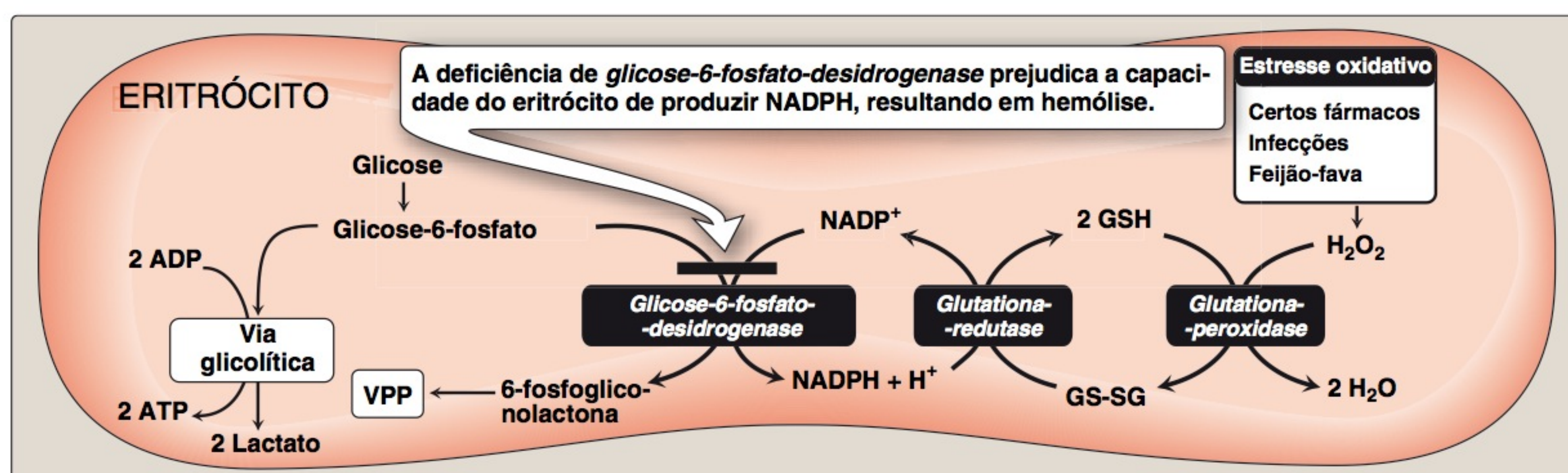


Figura 13.10

Vias metabólicas da glicose-6-fosfato no eritrócito. VPP = via das pentoses-fosfato.

V. DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-P-DESIDROGENASE

A deficiência de *glicose-6-fosfato-desidrogenase* (*G6PD*) é uma doença hereditária que se caracteriza por anemia hemolítica, causada pela incapacidade de destoxificar agentes oxidantes. Na espécie humana, a deficiência de *G6PD* é a anormalidade enzimática que mais causa doenças, afetando mais de 400 milhões de pessoas no mundo inteiro. A sua incidência é mais alta no Oriente Médio, na África tropical e na Ásia, além de partes do Mediterrâneo. A deficiência de *G6PD* é ligada ao X e, na verdade, compreende uma família de deficiências causadas por mais de 400 mutações diferentes no gene codificante da *G6PD*. Apenas algumas dessas mutações causam sintomas clínicos. (Nota: além da anemia hemolítica, outra manifestação clínica da deficiência da *G6PD* é a icterícia neonatal, a qual aparece de um a quatro dias após o nascimento. A icterícia, que pode ser grave, resulta tipicamente do aumento na produção de bilirrubina não conjugada [veja a p. 285].) A vida de muitos indivíduos com uma forma grave de deficiência de *G6PD* pode ser relativamente reduzida por complicações resultantes da hemólise crônica. Esse efeito negativo da deficiência de *G6PD* foi contrabalançado, ao longo da evolução, por uma vantagem na sobrevivência – maior resistência à malária falcípara, apresentada por mulheres portadoras da mutação. (Nota: o traço falciforme e a β -talassemia menor também conferem resistência.)

A. Função da G6PD nos eritrócitos

A diminuição da atividade da *G6PD* prejudica a capacidade da célula de formar o NADPH, que é essencial à manutenção do conjunto reduzido de glutatona. Isso resulta em uma queda na destoxificação celular de radicais livres e peróxidos, formados no interior da célula (Figura 13.10). A glutatona também ajuda a manter os estados reduzidos dos grupos sulfidril nas proteínas, incluindo a hemoglobina. A oxidação desses grupos sulfidril leva à desnaturação de proteínas, as quais formam massas insolúveis (chamadas de corpos de Heinz) que atacam as membranas do eritrócito (Figura 13.11). Devido à oxidação adicional das proteínas das membranas, os eritrócitos se tornam rígidos e não deformáveis, sendo removidos da circulação por macrófagos no baço e no fígado. Embora a deficiência de *G6PD* ocorra em todas as células do indivíduo afetado, ela é mais grave nos eritrócitos, onde a via das pentoses-fosfato corresponde à única forma de gerar NADPH. Outros tecidos têm fontes alternativas para a produção de NADPH (tais como *malato-desidrogenases dependentes de NADP⁺*, veja a Figura 16.11,

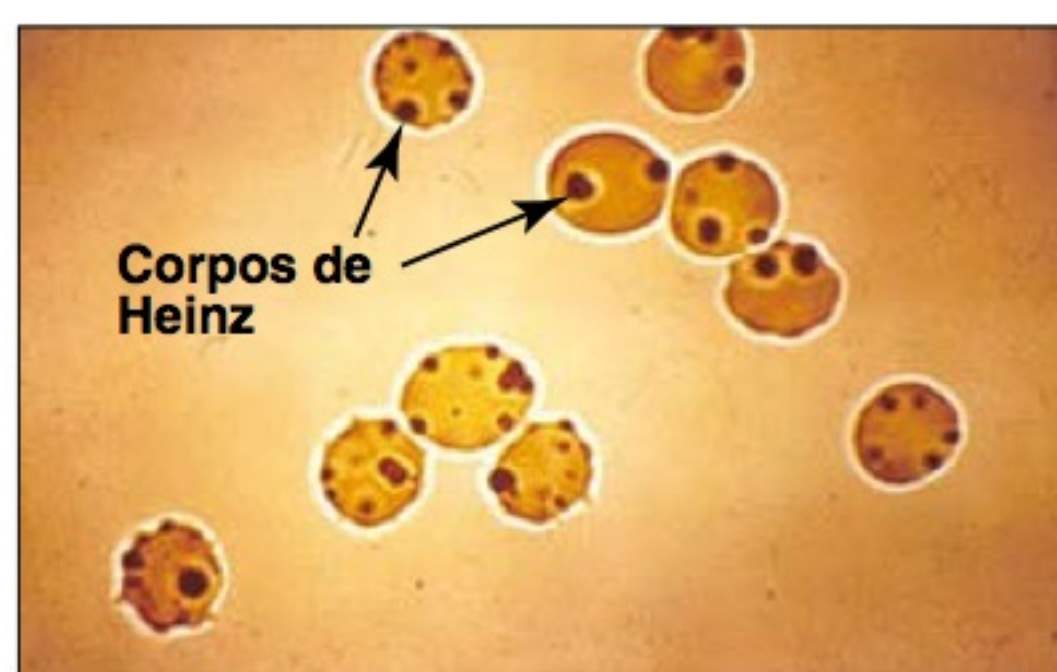


Figura 13.11

Corpos de Heinz em eritrócitos de paciente com deficiência de G6PD.

p. 187), que podem manter a glutatona reduzida. O eritrócito não tem núcleo ou ribossomos e não pode renovar seu suprimento da enzima. Sendo assim, eles são especialmente vulneráveis a variantes da enzima com estabilidade reduzida.

B. Fatores desencadeantes na deficiência de G6PD

A maioria dos indivíduos que herdaram uma das muitas mutações de *G6PD* não apresenta manifestações clínicas, ou seja, eles são assintomáticos. Entretanto, alguns pacientes com deficiência de *G6PD* desenvolvem anemia hemolítica se forem tratados com fármacos oxidantes, ingerirem feijão-fava ou contraírem uma infecção grave.

- 1. Fármacos oxidantes.** Fármacos de uso frequente e capazes de produzir anemia hemolítica em pacientes com deficiência de *G6PD* são melhor lembrados pelo mnemônico AAA – Antibióticos (p. ex., sulfametoxazol e cloranfenicol), Antimaláricos (p. ex., primaquina, mas não quinino) e Antipiréticos (p. ex., acetanilida, mas não acetaminofen).
- 2. Favismo.** Algumas variantes da deficiência de *G6PD* – por exemplo, a variante mediterrânea – são particularmente suscetíveis ao efeito hemolítico do feijão-fava, alimento básico da região do Mediterrâneo. O favismo, efeito hemolítico da ingestão do feijão-fava, não é observado em todos os indivíduos com deficiência de *G6PD*, mas todos os pacientes com favismo apresentam deficiência de *G6PD*.
- 3. Infecção.** Uma infecção é o fator desencadeante mais comum de hemólise na deficiência de *G6PD*. A resposta inflamatória à infecção resulta na geração de radicais livres nos macrófagos, que podem difundir para dentro dos eritrócitos e causar danos oxidativos.

C. Propriedades das variantes enzimáticas

Quase todas as variantes de *G6PD* são causadas por mutações pontuais no gene da *G6PD*. Algumas mutações não perturbam a estrutura do sítio ativo da enzima e, assim, não afetam a atividade enzimática. Entretanto, muitas enzimas mutantes apresentam propriedades cinéticas alteradas. Por exemplo, variantes enzimáticas podem apresentar diminuição na atividade catalítica, menor estabilidade ou alteração da afinidade de ligação de NADP⁺, NADPH ou glicose-6-fosfato. A gravidade da doença geralmente está correlacionada ao grau de atividade enzimática residual nos eritrócitos do paciente. Por exemplo, as variantes podem ser classificadas como mostrado na Figura 13.12. A variante *G6PD A*⁻ é o protótipo da forma moderada da doença (classe III). Os eritrócitos contêm uma *G6PD* instável, mas cineticamente normal, com a maior parte da atividade enzimática presente nos reticulócitos e nos eritrócitos mais jovens (Figura 13.13). As células mais velhas, portanto, apresentam um nível mais baixo de atividade enzimática, e são removidas preferencialmente em um episódio hemolítico. A *G6PD* mediterrânea é o protótipo de uma deficiência mais grave (classe II), na qual a enzima apresenta estabilidade diminuída, resultando no decréscimo da atividade enzimática. Mutações de classe I, que são raras, são as mais graves e costumam estar associadas à anemia crônica não esferocítica, ocorrendo mesmo na ausência de estresse oxidativo.

D. Biologia molecular da G6PD

A clonagem do gene da *G6PD* e o sequenciamento de seu DNA (veja a p. 467) permitiram a identificação das mutações que causam a de-

Classe	Sintomas clínicos	Atividade enzimática residual
I	Muito graves (Anemia hemolítica crônica)	<10%
II	Graves (Anemia hemolítica episódica)	<10%
III	Moderados	10–60%
IV	Ausentes	>60%

Figura 13.12

Classificação das variantes de deficiências de *G6PD*. (Nota: mutações de classe V [não mostradas na tabela] resultam em superprodução de *G6PD*.)

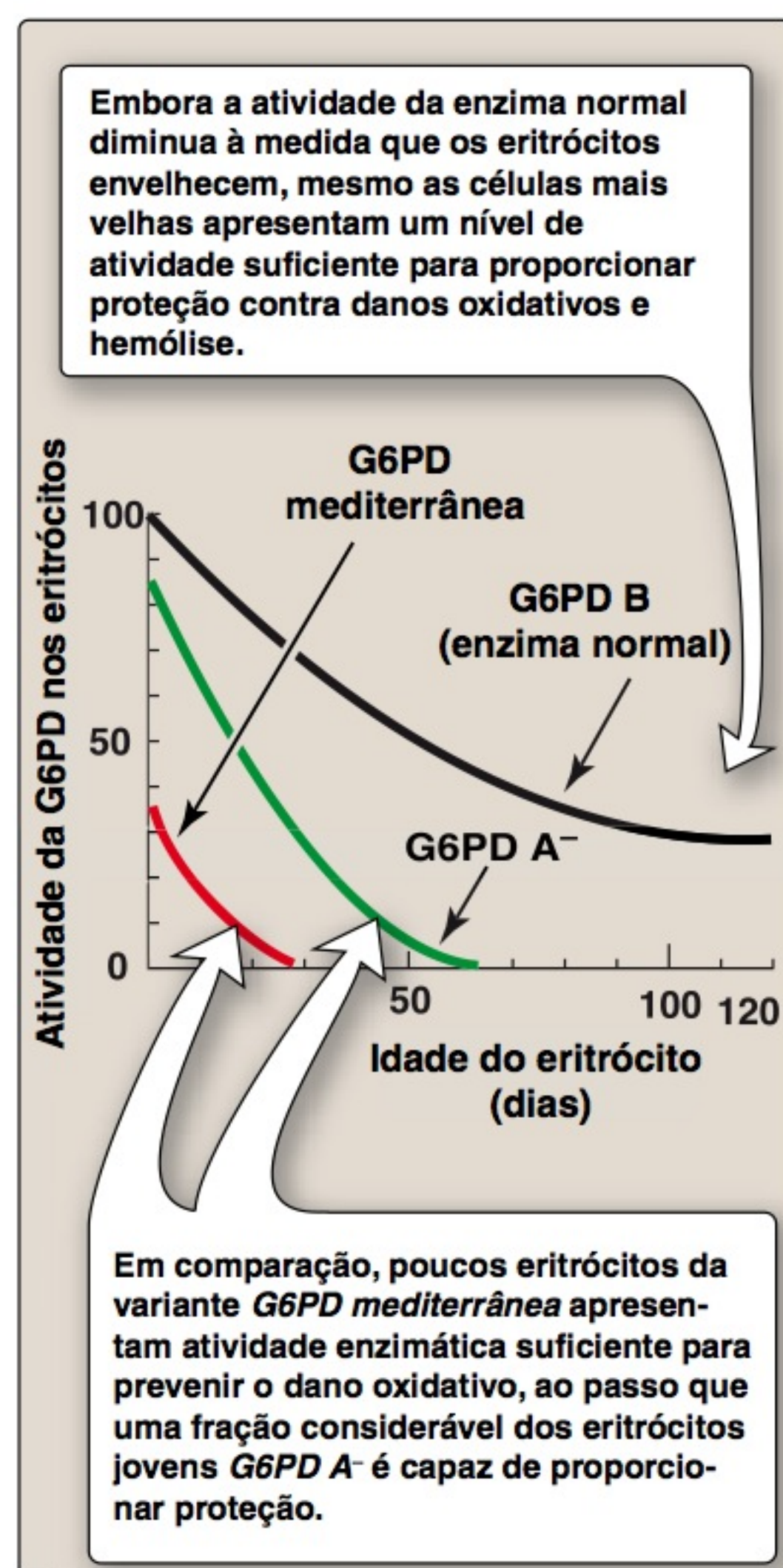


Figura 13.13

Diminuição das atividades das três formas mais comumente encontradas da *G6PD* em relação ao envelhecimento celular.

ficiência de *G6PD*. Mais de 400 diferentes mutações ou combinações de mutações foram identificadas nesse gene, descoberta que explica as numerosas variantes bioquímicas descritas. A maioria dessas mutações que resultam na deficiência enzimática são mutações de perda de sentido (veja a p. 433) na região codificante. Tanto a *G6PD A⁻* quanto a *G6PD* mediterrânea representam enzimas mutantes que diferem das respectivas variantes normais por um único aminoácido. Não foram identificadas mutações com grandes deleções ou com alteração do módulo de leitura, o que sugere que a ausência completa da atividade de *G6PD* provavelmente seja letal.

VI. RESUMO DO CAPÍTULO

A **via das pentoses-fosfato** consiste em duas reações de oxidação irreversíveis, seguidas de uma série de interconversões reversíveis de oses fosfatadas (Figura 13.14). Nenhum ATP é diretamente consumido ou produzido no ciclo. A **parte oxidativa e produtora de NADPH** da via das pentoses-fosfato é especialmente importante no fígado, nas glândulas mamárias e no tecido adiposo, que são tecidos ativos na biossíntese de ácidos graxos; na placenta, nos ovários, nos testículos e no córtex adrenal, que apresentam síntese de hormônios esteroides; e nos eritrócitos, que precisam de glutatona reduzida. A **glicose-6-fosfato** é convertida irreversivelmente em **ribulose-5-fosfato**, enquanto **dois NADPH** são produzidos. O passo regulado é a **glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD)**, que é fortemente **inibida por NADPH**. **Reações reversíveis não oxidativas** interconvertem açúcares. Essa parte da via é a **fonte de ribose-5-fosfato**, necessária para a síntese de nucleotídeos e ácidos nucleicos. Como as reações são reversíveis, elas podem ser iniciadas a partir de frutose-6-fosfato e de gliceraldeído-3-fosfato (intermediários glicolíticos) se a ribose for necessária e a glicose-6-fosfato-desidrogenase estiver inibida. O **NADPH** é fonte de equivalentes redutores nas **biossínteses redutoras**, como na produção de ácidos graxos e de esteroides. Ele também é necessário para a **redução do peróxido de hidrogênio**, proporcionando os equivalentes redutores necessários para a **glutatona (GSH)**. A GSH é utilizada pela **glutatona-peroxidase** para reduzir peróxidos à água. A glutatona oxidada é reduzida pela **glutatona-redutase**, usando NADPH como fonte de elétrons. O NADPH proporciona equivalentes redutores para o **sistema citocromo P450-monooxigenase mitocondrial**, usado na síntese de hormônios esteroides nos tecidos esteroideogênicos, na **síntese de ácidos biliares** pelo fígado e na **ativação de vitamina D no fígado e nos rins**. O sistema microssomal utiliza o NADPH para **destoxificar** compostos estranhos (xenobióticos), como fármacos e poluentes variados. O NADPH proporciona os equivalentes redutores para os fagócitos no processo de eliminação de microrganismos invasores. A **NADPH-oxidase** usa o oxigênio molecular e elétrons do NADPH para produzir **radicais superóxido**, os quais, por sua vez, podem ser convertidos em peróxidos pela superóxido-dismutase. A **mieloperoxidase** catalisa a formação do bactericida ácido hipocloroso a partir do peróxido e do íon cloreto. Um defeito genético na NADPH-oxidase causa **granulomatose crônica**, uma doença caracterizada por infecções graves e persistentes e por formação de granulomas. O NADPH é necessário para a síntese de **óxido nítrico (NO)**, molécula importante que causa **vasodilatação** por meio do relaxamento da musculatura lisa dos vasos, age como uma espécie de **neurotransmissor**, previne a **agregação plaquetária** e ajuda a mediar a **atividade bactericida dos macrófagos**. A **deficiência de G6PD** prejudica a capacidade da célula de formar o NADPH essencial à manutenção do conjunto de glutatona reduzida. As células mais afetadas são os **eritrócitos**, pois eles não têm fontes adicionais de NADPH. A deficiência de G6PD é uma **doença genética ligada ao X**, caracterizada por **anemia hemolítica**. Os **radicais livres** e os **peróxidos**, formados no interior da célula, não podem ser neutralizados, causando desnaturação de proteínas no citosol (p. ex., da hemoglobina, formando corpos de Heinz) e de proteínas de membrana. As células tornam-se rígidas, sendo removidas pelo sistema retículo endotelial do baço e do fígado. Bebês com deficiência de G6PD podem desenvolver **icterícia neonatal**. A anemia hemolítica pode ser causada pela produção de radicais livres e peróxidos após a ingestão de **fármacos oxidantes**, de **feijão-fava** ou na presença de **infecções** graves. O nível de gravidade da anemia depende da atividade residual da enzima. As mutações de classe I são mais graves e estão associadas à **anemia crônica não esferocítica**. As mutações de classe II (p. ex., a **G6PD mediterrânea**) são também graves. As mutações de classe III (como a **G6PD A⁻**) causam uma forma mais moderada da doença.

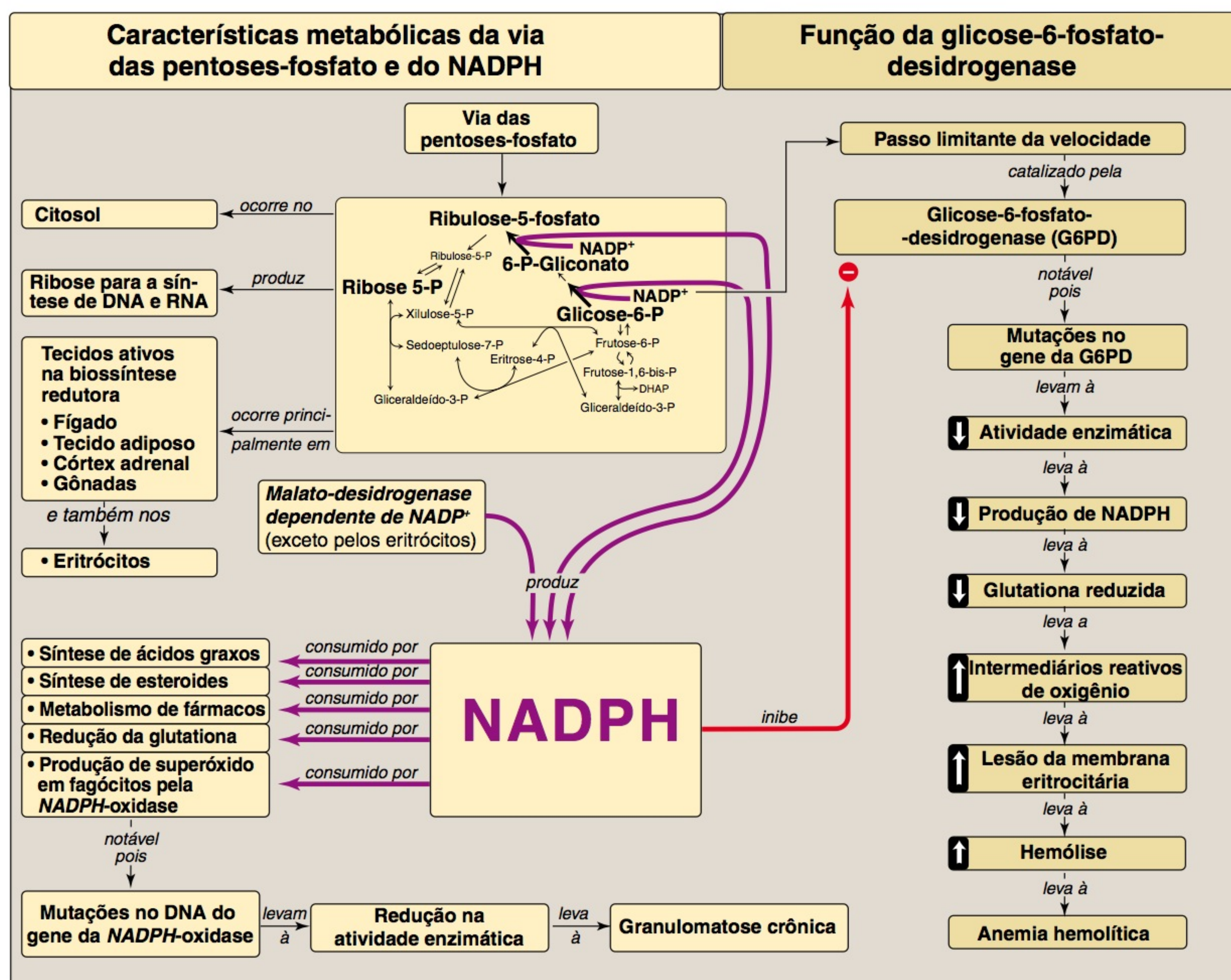


Figura 13.14

Mapa de conceitos-chave para a via das pentoses-fosfato e NADPH.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 13.1 Em preparação a uma viagem para uma área da Índia onde malária é endêmica, um jovem recebe primaquina profilaticamente. Logo após, ele desenvolve uma condição hemolítica. A causa mais provável da hemólise é o nível menor do que o normal de qual das seguintes alternativas?
- Glicose-6-fosfato
 - Forma oxidada de NAD
 - Forma reduzida da glutatona
 - Ribose-5-fosfato
 - Ribulose-5-fosfato

Resposta correta = C A glutatona é essencial para a integridade das hemácias e é mantida na sua forma funcional (reduzida) pela glutatona-redutase dependente de NADPH. O NADPH é gerado pela fase oxidativa da via das pentoses-fosfato. Indivíduos com deficiência na enzima inicial e reguladora desta via (*G6PD*) possuem uma capacidade reduzida de gerar NADPH e, portanto, uma menor capacidade de manter a glutatona funcional. Quando tratados com uma droga oxidante como a primaquina, alguns pacientes com deficiência na *G6PD* desenvolvem anemia hemolítica. A primaquina não afeta os níveis de glicose-6-fosfato. O NAD⁺ não é produzido pela via das pentoses fosfato e nem é usado como coenzima pela glutatona-redutase. A ribulose-5-fosfato, outro produto da fase oxidativa da via das pentoses-fosfato, pode ser isomerizada a ribose-5-fosfato, contudo, a deficiência de qualquer desses compostos não causa hemólise.

13.2 Em pacientes do sexo masculino homozigotos para deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD), as consequências fisiopatológicas são mais evidentes nos eritrócitos do que em outras células, como as do fígado. Qual das alternativas apresenta a explicação mais razoável para essa resposta diferente desses tipos individuais de tecidos?

- A. A glicose-6-P em excesso no fígado, mas não nos eritrócitos, pode ser canalizada para a síntese de glicogênio, prevenindo, assim, danos celulares.
- B. Hepatócitos, diferentemente dos eritrócitos, têm mecanismos alternativos para fornecer o NADPH necessário para manter a integridade metabólica e celular.
- C. A atividade da glicose-6-fosfatase nos eritrócitos remove a glicose-6-fosfato em excesso, resultando em dano celular. Isso não acontece no hepatócito.
- D. Como os eritrócitos não têm mitocôndrias, a produção de ATP necessária para manter a integridade das células depende exclusivamente do direcionamento da glicose-6-fosfato para a via das pentoses-fosfato.
- E. As propriedades catalíticas das enzimas do fígado são bastante diferentes daquelas das enzimas dos eritrócitos.

13.3 Um indivíduo com G6PD A⁻ foi tratado com primaquina do dia 0 ao dia 120 (Figura 13.15). Ocorreu hemólise imediatamente após o início da terapia com o medicamento, como indicado pela anemia progressiva, hemoglobinúria e reticulocitose. Entretanto, apesar da administração continuada da droga, a hemólise diminuiu espontaneamente e a sobrevivência dos eritrócitos melhorou com o tempo. A atividade da G6PD no eritrócito, medida dois meses após o término da terapia foi de 10% do normal. Qual das seguintes afirmações sobre esse paciente é correta?

- A. O paciente continuará a ser resistente à hemólise induzida por drogas após seis meses ou mais.
- B. Os eritrócitos desse paciente apresentam uma vida mais longa do que em indivíduos normais.
- C. Durante o período de pico da hemólise, os eritrócitos do paciente não devem apresentar qualquer atividade de G6PD.
- D. A concentração intracelular de NADPH nos eritrócitos do paciente é maior do que o normal.
- E. O paciente apresenta maior eritropoiese na medula óssea.

Resposta correta = B. O dano celular está diretamente relacionado à diminuição da capacidade da célula em regenerar a glutatona reduzida, para a qual são necessárias grandes quantidades de NADPH, e os eritrócitos não têm outros meios de produzir NADPH. As propriedades catalíticas da glicose-6-fosfato-desidrogenase no fígado e nos eritrócitos são muito semelhantes. A via das pentoses-fosfato não produz ATP. Os eritrócitos não apresentam glicose-6-fosfatase.

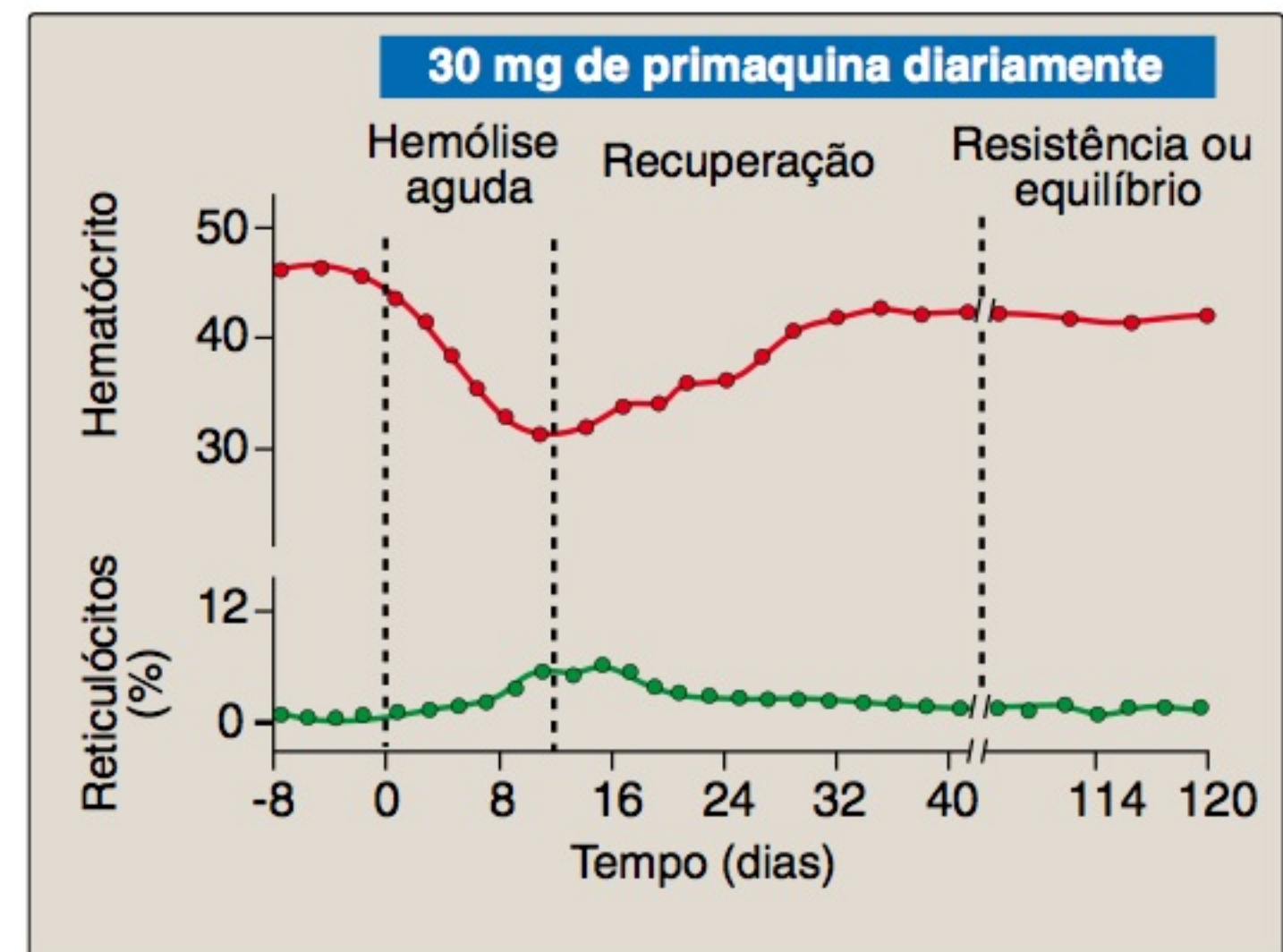


Figura 13.15

Curso temporal da hemólise induzida por primaquina em um paciente com deficiência de G6PD.

Resposta correta = E. À medida que os eritrócitos envelhecem, a atividade da G6PD diminui (veja a Figura 13.13). Apesar dessa perda de atividade enzimática, eritrócitos mais velhos normais contêm atividade suficiente de G6PD para gerar NADPH e, assim, sustentar os níveis de GSH em face de estresse oxidativo. Em contraste, as variantes de G6PD com hemólise têm meias-vidas muito mais curtas. O correlato clínico dessa instabilidade enzimática em função da idade é que a hemólise, em pacientes com G6PD A⁻, geralmente é leve e limitada aos eritrócitos deficientes mais velhos. A anemia é autolimitada, porque a população mais velha e vulnerável de eritrócitos é substituída por eritrócitos mais novos, com suficiente atividade de G6PD para suportar um ataque oxidante. Embora a sobrevivência dos eritrócitos permaneça reduzida durante o uso do fármaco, a compensação pela medula eritroide suprime efetivamente a anemia em sujeitos com G6PD A⁻. A sensibilidade continuada do indivíduo aos efeitos da droga é revelada interrompendo-se a sua administração por vários meses, para permitir que a taxa de produção pela medula óssea seja normalizada. Durante essa fase, os eritrócitos mais velhos conseguem sobreviver, e a população de eritrócitos se torna sensível à hemólise induzida pelo fármaco.

Glicosaminoglicanos, 14 Proteoglicanos e Glicoproteínas

I. VISÃO GERAL DOS GLICOSAMINOGLICANOS

Os glicosaminoglicanos (GAG) são grandes complexos de cadeias de heteropolissacarídeos com carga negativa. Em geral, estão associados a pequenas quantidades de proteínas, formando proteoglicanos, tipicamente constituídos por mais de 95% de carboidratos. (Nota: isso em comparação com as glicoproteínas, que consistem basicamente em proteínas com pequena quantidade de carboidratos [veja a p. 165].) Os glicosaminoglicanos têm a capacidade especial de ligar grandes quantidades de água, formando uma espécie de gel, o qual forma uma base, que, juntamente com proteínas fibrosas estruturais como o colágeno e a elastina, e proteínas adesivas como a fibronectina, compõem a matriz extracelular (MEC). Os glicosaminoglicanos hidratados servem como suporte flexível da MEC, interagindo com proteínas estruturais e adesivas, e servem como peneiras moleculares, influenciando o movimento de substâncias através da MEC. As propriedades viscosas e lubrificantes das secreções das mucosas também resultam da presença de glicosaminoglicanos, o que levou ao nome original desses compostos: mucopolissacarídeos.

II. ESTRUTURA DOS GLICOSAMINOGLICANOS

Os glicosaminoglicanos (GAG) são heteropolissacarídeos de cadeias longas e não ramificadas, geralmente compostos por uma unidade de dissacarídeo que se repete (açúcar ácido – açúcar aminado)_n (Figura 14.1). O açúcar aminado é a D-glicosamina ou a D-galactosamina, nas quais o grupo amino é geralmente acetilado, eliminando assim sua carga positiva. O açúcar aminado pode também ser sulfatado nos carbonos 4 ou 6 ou no nitrogênio não acetilado. O açúcar ácido é o ácido D-glicurônico ou seu epímero no carbono-5, o ácido L-idurônico (Figura 14.2). (Nota: a única exceção é o queratan sulfato, que apresenta a galactose em vez de açúcar ácido.) Esses açúcares ácidos contêm grupos carboxila com carga negativa no pH fisiológico e, junto com os grupos sulfato, conferem aos glicosaminoglicanos sua natureza fortemente negativa.

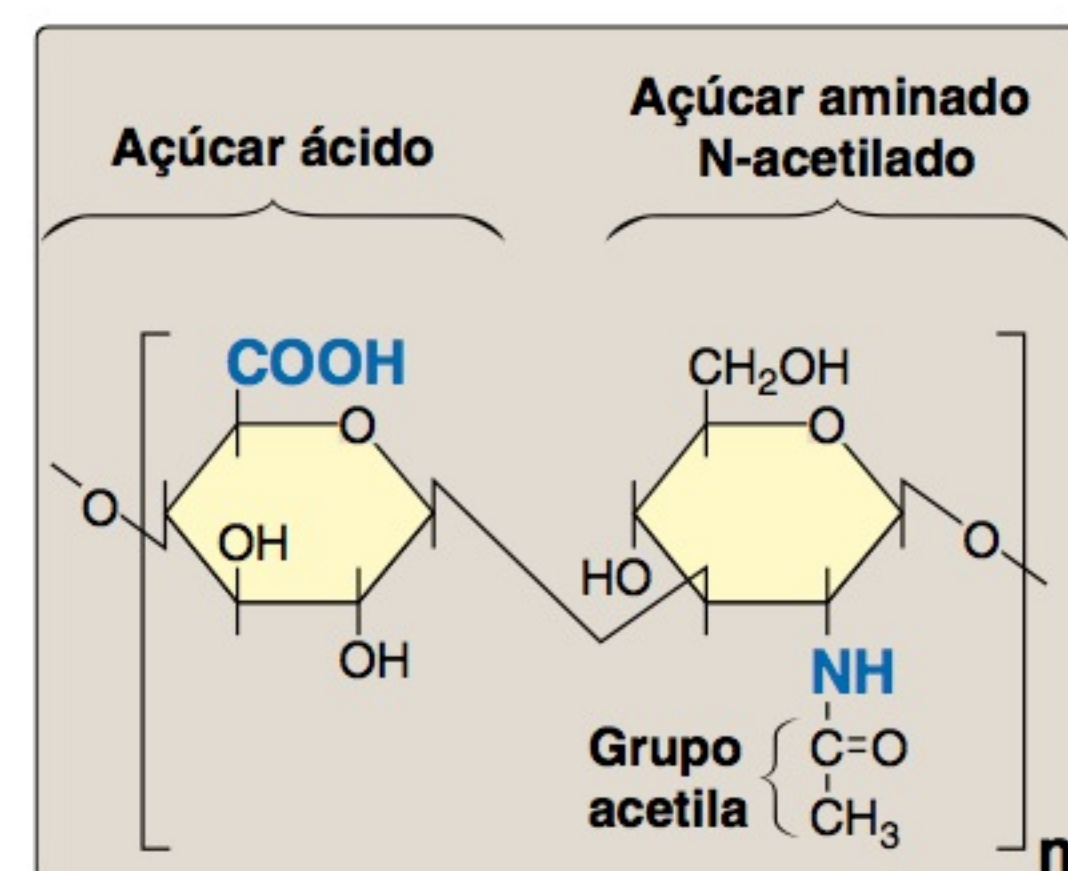


Figura 14.1

Dissacarídeo de repetição.

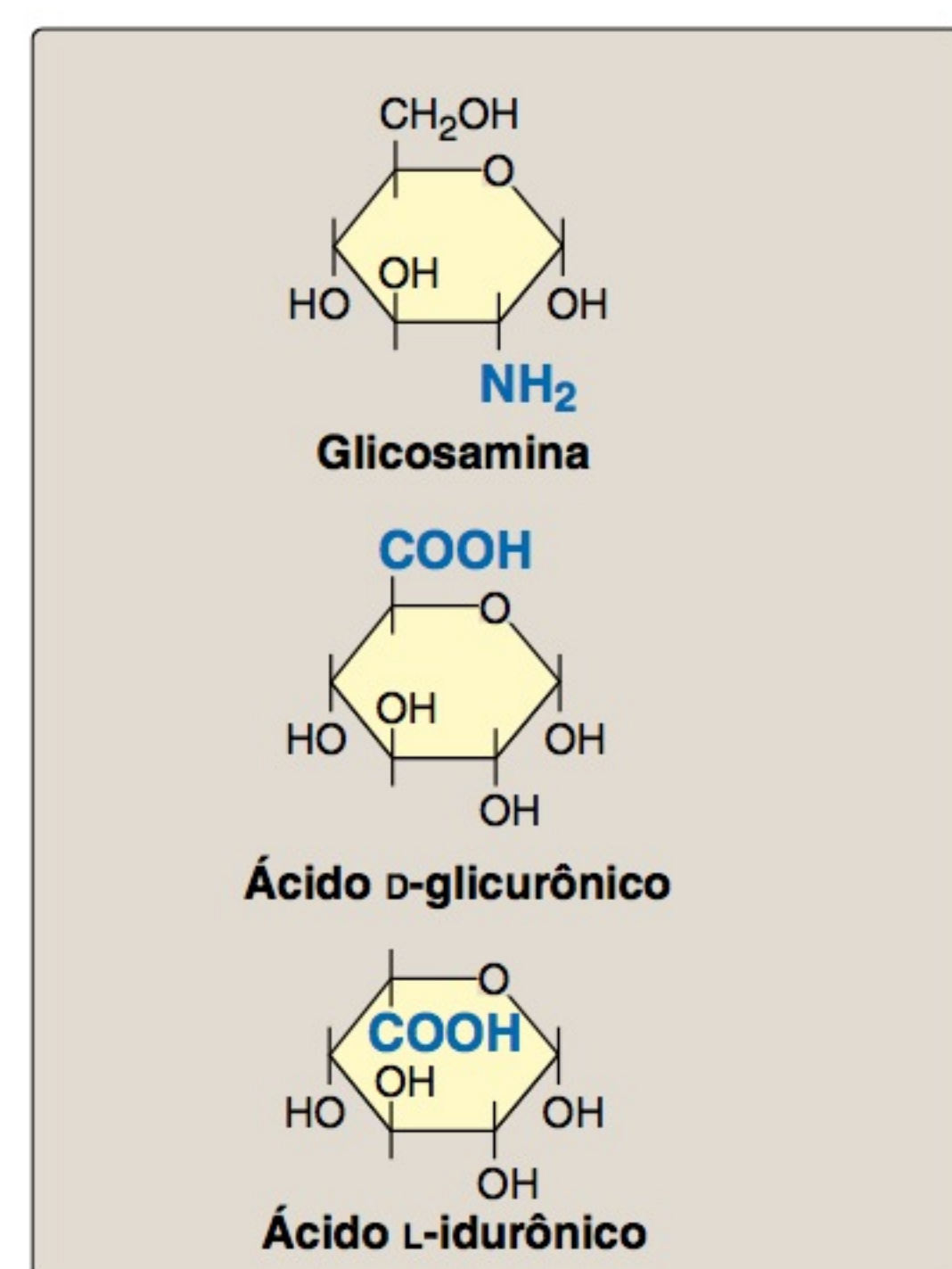


Figura 14.2

Alguns monossacarídeos encontrados em glicosaminoglicanos.

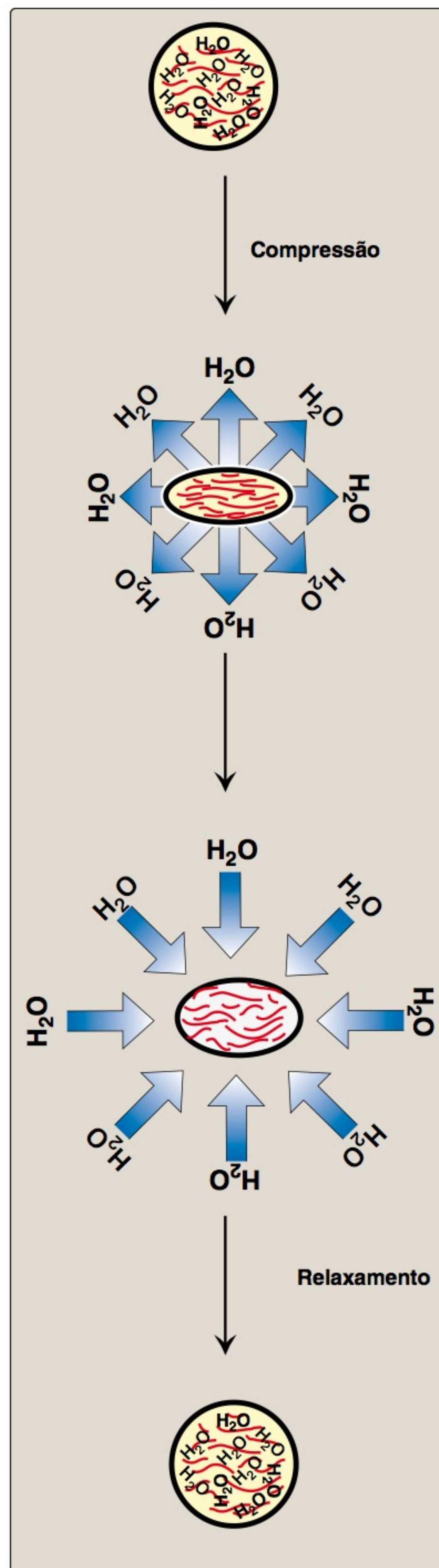


Figura 14.3

Resiliência dos glicosaminoglicanos.

A. Relação entre a estrutura e a função dos glicosaminoglicanos

Devido à grande quantidade de cargas negativas, essas cadeias de heteropolissacarídeos tendem a estar estendidas quando em solução. Elas se repelem e são cercadas por uma camada de moléculas de água. Quando colocadas juntas, “escorregam” umas sobre as outras, de modo semelhante a dois ímãs com a mesma polaridade, que parecem “deslizar” um sobre o outro. Isso produz a consistência “escorregadia” das secreções das mucosas e do fluido sinovial. Quando uma solução de glicosaminoglicanos é comprimida, a água é “espremida”, e os glicosaminoglicanos são forçados a ocupar um volume menor. Quando a compressão é suspensa, os glicosaminoglicanos voltam ao seu volume original hidratado, devido à repulsão das suas cargas negativas. Essa propriedade contribui para a resiliência do fluido sinovial e do humor vítreo dos olhos (Figura 14.3).

B. Classificação dos glicosaminoglicanos

As seis principais classes de glicosaminoglicanos são divididas conforme a sua composição monomérica, o tipo de ligação glicosídica, o número e a localização de radicais sulfato. As estruturas dos glicosaminoglicanos e a sua distribuição no corpo estão ilustradas na Figura 14.4.

C. Estrutura dos proteoglicanos

Todos os glicosaminoglicanos (com exceção do ácido hialurônico) são encontrados unidos covalentemente a proteínas, formando monômeros de proteoglicanos.

1. **Estrutura dos monômeros de proteoglicanos.** Um monômero de proteoglicano encontrado na cartilagem consiste em uma proteína central à qual se unem as cadeias lineares de glicosaminoglicano por meio de ligação covalente. Essas cadeias, cada qual podendo ser composta por mais de 100 monossacarídeos, estendem-se a partir da proteína central e se mantêm separadas devido à repulsão das cargas. A estrutura resultante lembra uma “escova para frascos” (Figura 14.5). No proteoglicano da cartilagem, as espécies de glicosaminoglicanos incluem condroitina sulfato e queratan sulfato. (Nota: os proteoglicanos são atualmente agrupados em famílias de genes que codificam as proteínas centrais com características estruturais comuns. Um exemplo, que é abundante na cartilagem, é a família agrecan [agrecan, versican, neurocan e brevican].)
2. **Ligação entre a cadeia glicídica e a proteína.** Essa união ocorre mais comumente por um trissacarídeo (galactose-galactose-xilose) e um resíduo de serina, respectivamente. Uma ligação O-glicosídica é formada entre a xilose e o grupo hidroxila da serina (Figura 14.6).
3. **Agregados de proteoglicanos.** Os monômeros proteoglicanos se associam a uma molécula de ácido hialurônico para formar agregados de proteoglicanos. A associação não é covalente, mas acontece principalmente por meio de interações iônicas entre a proteína central e o ácido hialurônico. A associação é estabilizada por pequenas proteínas adicionais, chamadas proteínas de ligação (Figura 14.7).

III. SÍNTESE DOS GLICOSAMINOGLICANOS

As cadeias de polissacarídeos são alongadas pela adição sequencial alternada de açúcares ácidos e de açúcares aminados, doados por seus derivados de UDP. As reações são catalisadas por uma família de *glicosiltransferases*

específicas. A síntese dos glicosaminoglicanos é análoga à do glicogênio (veja p. 126), exceto pelo fato de que os glicosaminoglicanos são produzidos para serem exportados da célula. Portanto, a sua síntese ocorre principalmente no aparelho de Golgi e não no citosol.

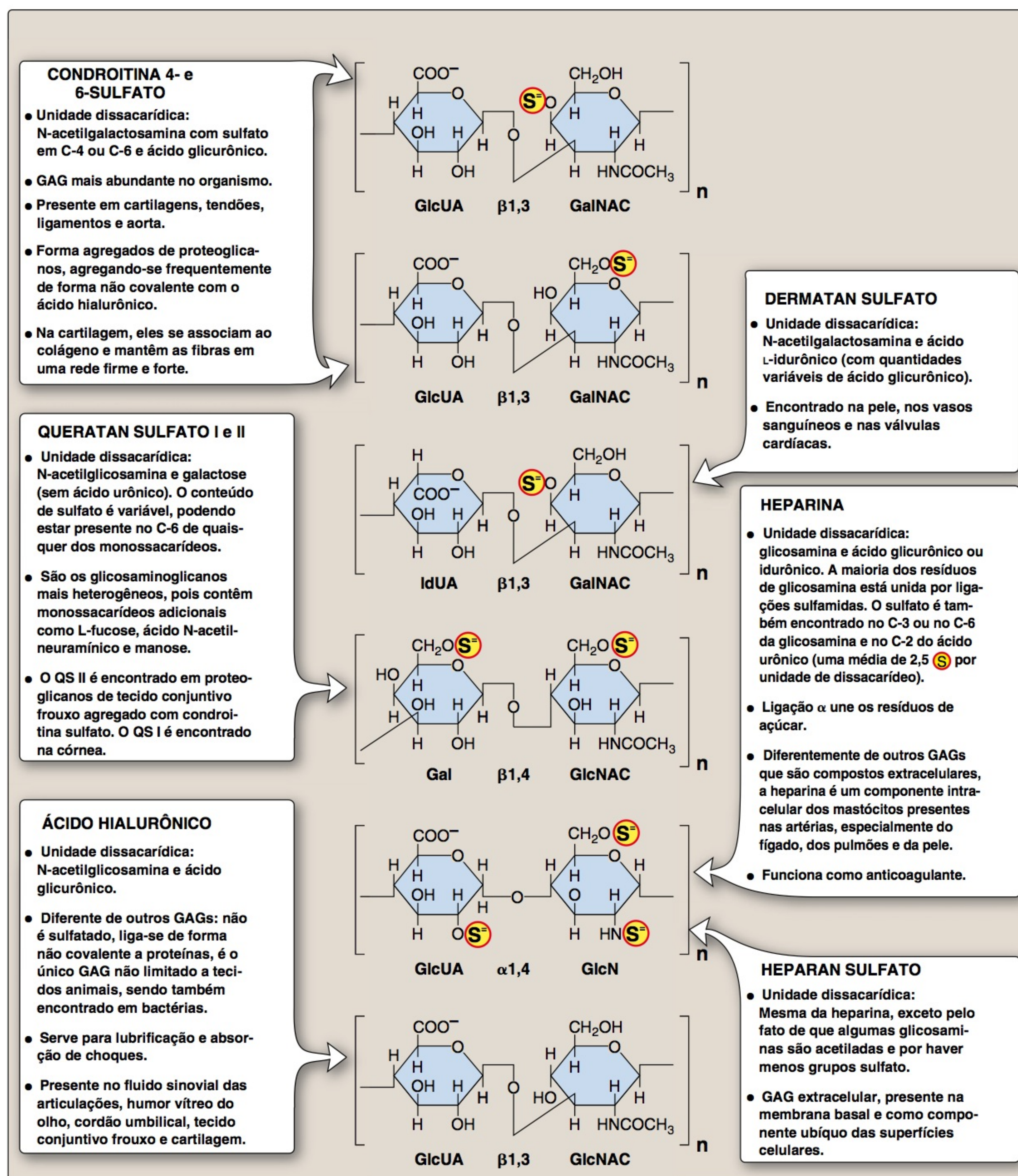
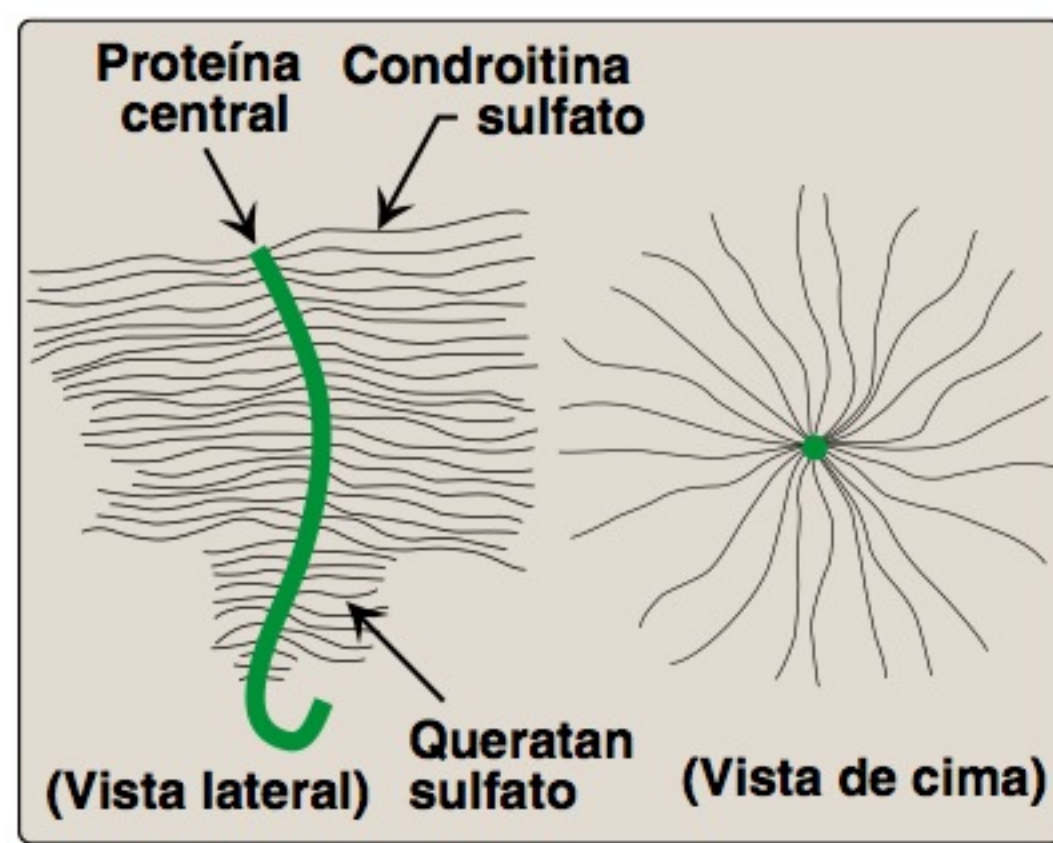
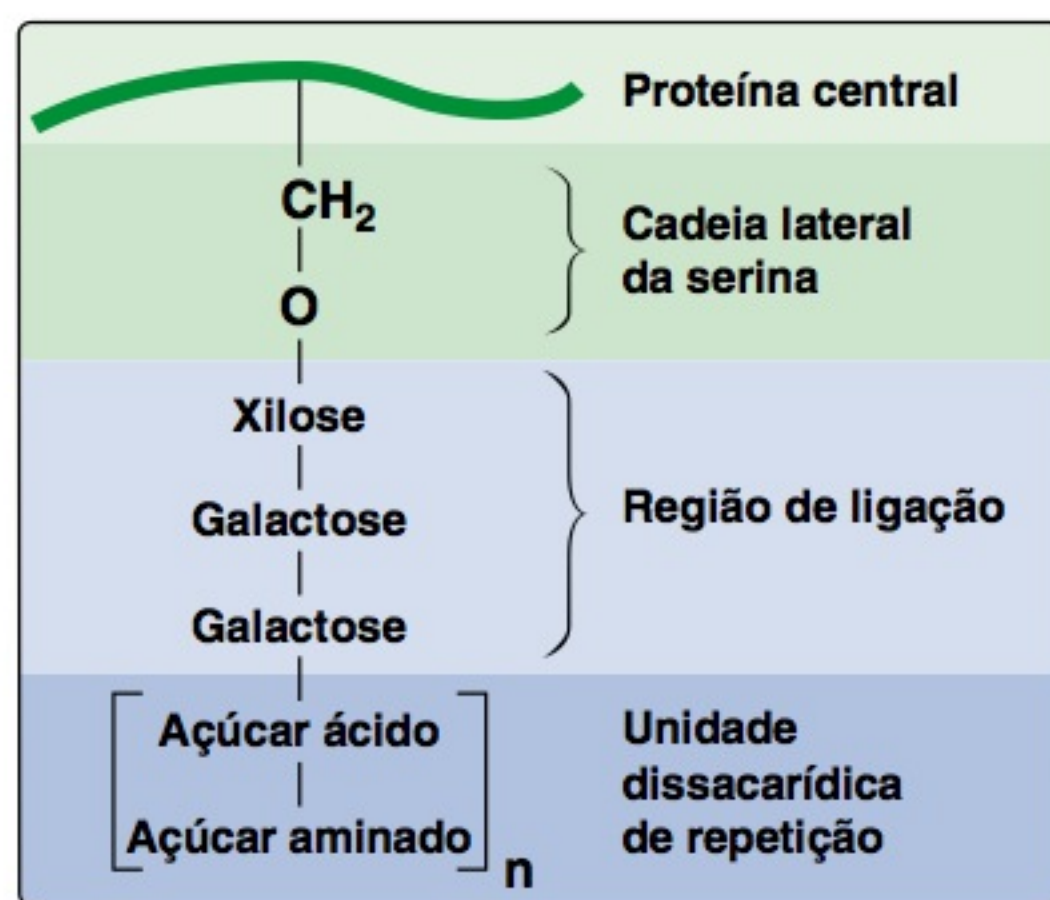


Figura 14.4

Estrutura e distribuição dos glicosaminoglicanos (GAGs). Grupos sulfato (S⁻) são mostrados em todas as posições possíveis. GlcUA = ácido glicurônico; IdUA = ácido idurônico; GalNAC = N-acetilgalactosamina; GlcNAC = N-acetilglucosamina; GlcN = glucosamina; Gal = galactose.

**Figura 14.5**

Modelo do tipo “escova para frascos” de um monômero de proteoglicano de cartilagem.

**Figura 14.6**

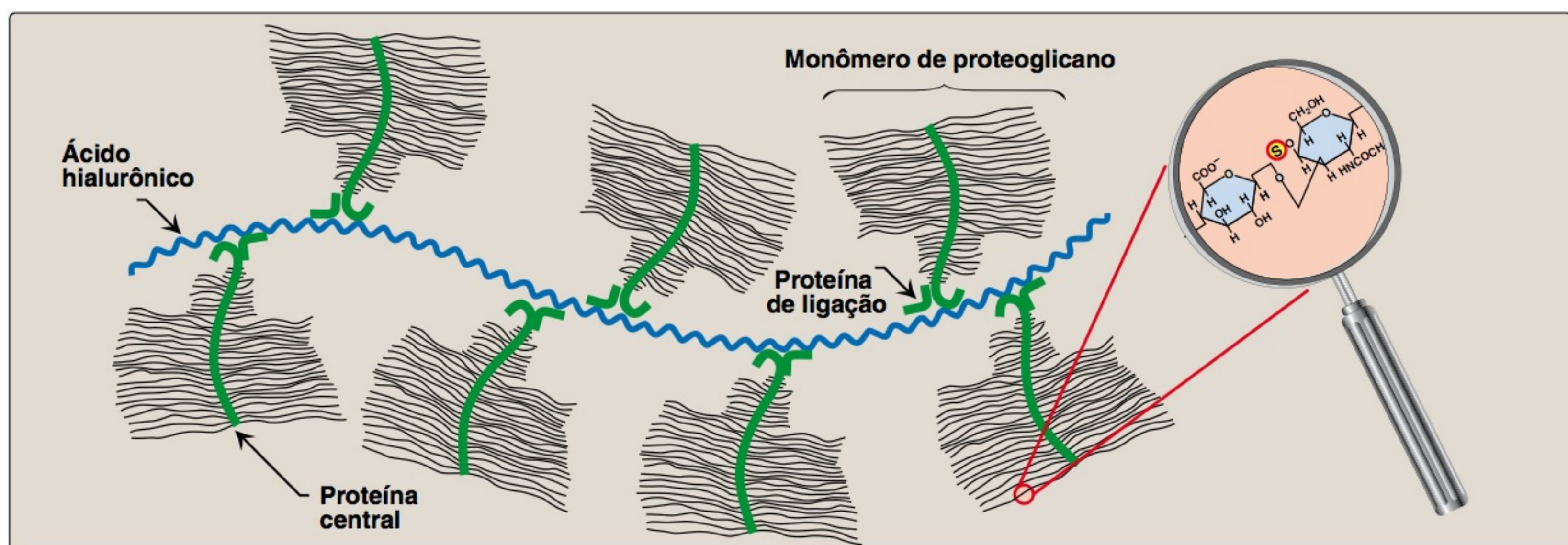
Região de ligação dos glicosaminoglicanos.

A. Síntese de açúcares aminados

Os açúcares aminados são componentes essenciais de glicosaminoglicanos, glicoproteínas, glicolípídeos e certos oligossacarídeos, sendo também encontrados em alguns antibióticos. A via sintética dos aminoaçúcares é muito ativa no tecido conjuntivo, onde até 20% da glicose flui por essa via.

1. **N-acetilglicosamina (GlcNAc) e N-acetilgalactosamina (GalNAc).** O monossacarídeo frutose-6-fosfato é o precursor de GlcNAc, GalNAc e dos ácidos siálicos, incluindo o ácido N-acetilneuramínico (NANA, um monossacarídeo ácido de nove carbonos). Em cada um desses açúcares, um grupo hidroxila do precursor é substituído por um grupo amino doado pelo aminoácido glutamina (Figura 14.8). (Nota: os grupos amino são então quase sempre acetilados.) Os derivados UDP de GlcNAc e GalNAc são sintetizados por reações análogas àquelas descritas para a síntese de UDP-glicose (veja a p. 126). Essas são as formas ativadas dos monossacarídeos que podem ser utilizadas para alongar as cadeias de carboidratos.

2. **Ácido N-acetilneuramínico.** O ácido N-acetilneuramínico (NANA) é um membro da família dos ácidos siálicos, e cada um deles é acetilado em um ponto distinto. Esses compostos são geralmente encontrados como resíduos glicídicos terminais de cadeias oligossacarídicas laterais de glicoproteínas, glicolípídeos ou, com menor frequência, de glicosaminoglicanos. Os carbonos e o nitrogênio do NANA vêm da N-acetilmanosamina e do fosfoenolpiruvato (um intermediário da via glicolítica, veja a p. 102). (Nota: antes que possa ser acrescentado a um oligossacarídeo crescente, o NANA deve ser convertido em sua forma ativa, por reação com trifosfato de citidina [CTP]. A enzima *CMP-NANA-sintetase* catalisa a reação. Esse é o único nucleotídeo-açúcar no metabolismo humano em que o nucleotídeo carregador é um monofosfato.)

**Figura 14.7**

Agregado de proteoglicanos.

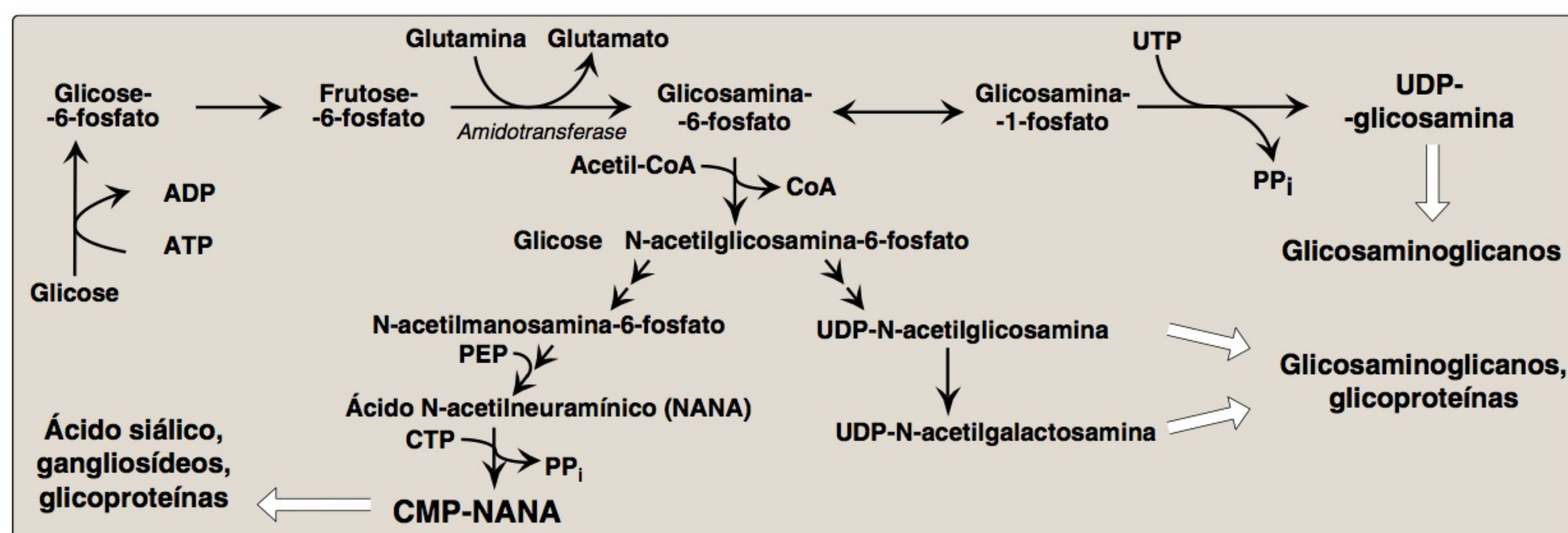


Figura 14.8

Síntese de aminoaçúcares.

B. Síntese de açúcares ácidos

O ácido D-glicurônico – cuja estrutura é a da glicose com o carbono 6 oxidado ($-\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow -\text{COOH}$) – e seu epímero em C-5, o ácido L-idurônico, são componentes essenciais dos glicosaminoglicanos. O ácido glicurônico é também necessário nas reações de destoxificação de uma série de compostos insolúveis, como bilirrubina (veja a p. 282), esteroides e vários fármacos, incluindo morfina. Em plantas e mamíferos (com exceção de porcos-da-índia e de primatas, incluindo o homem), o ácido glicurônico serve como precursor do ácido ascórbico (vitamina C). A via do ácido urônico proporciona também um mecanismo pelo qual a D-xilulose da dieta pode entrar nas vias metabólicas centrais.

- 1. Ácido glicurônico.** O ácido glicurônico pode ser obtido em pequenas quantidades na dieta. Ele pode também ser obtido a partir da degradação intracelular lisossomal de glicosaminoglicanos, ou pela via do ácido urônico. O produto final do metabolismo do ácido glicurônico em seres humanos é a D-xilulose-5-fosfato, que pode entrar na via das pentoses-fosfato e produzir os intermediários glicolíticos gliceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato (Figura 14.9; veja também a Figura 13.2, p. 146). A forma ativa do ácido glicurônico, que doa o açúcar na síntese de glicosaminoglicanos e em outras reações de glicuronização, é o UDP-ácido glicurônico, formado pela oxidação da UDP-glicose (Figura 14.10).
- 2. Síntese do ácido L-idurônico.** A síntese dos resíduos de ácido L-idurônico ocorre após o ácido D-glicurônico ser incorporado na cadeia oligossacarídica. A *uronosil-5-epimerase* catalisa a epimerização do açúcar D em L.

C. Síntese da proteína central

A proteína central é sintetizada junto ao retículo endoplasmático rugoso (RER) e nele entra. Após, a proteína é glicosilada por *glicosiltransferases* ligadas à membrana, localizadas no aparelho de Golgi.

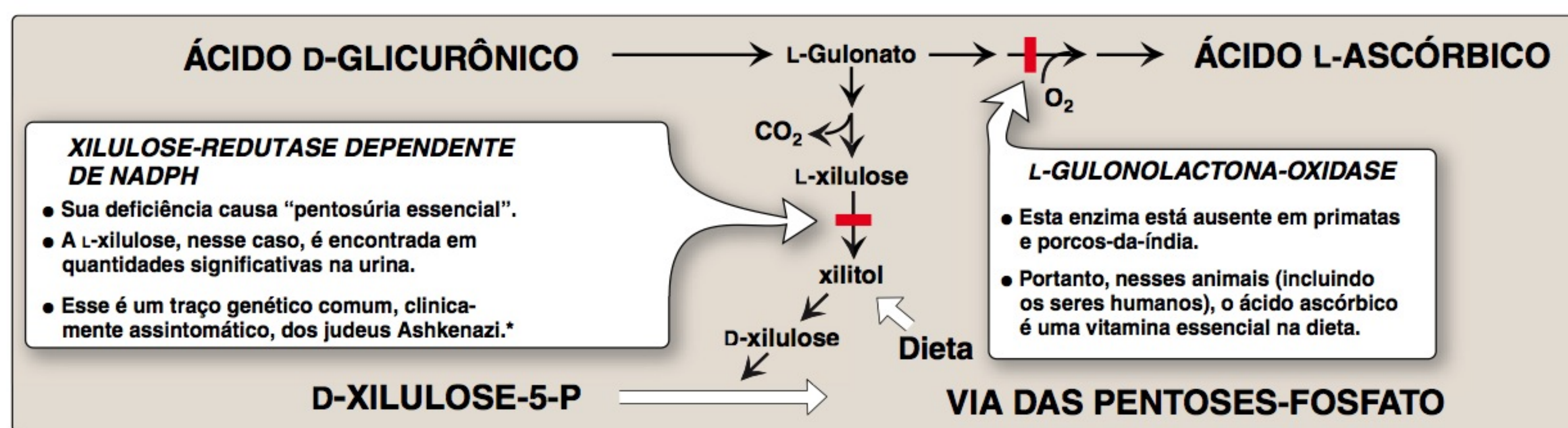


Figura 14.9
Via do ácido urônico.

D. Síntese da cadeia oligossacarídica

A formação da cadeia oligossacarídica começa pela síntese de uma pequena região de ligação na proteína central, sobre a qual a síntese da cadeia oligossacarídica será iniciada. A região de ligação mais comum é formada pela transferência de uma xilose da UDP-xilose para o grupo hidroxila de uma serina (ou treonina), catalisada pela *xilosiltransferase*. Duas moléculas de galactose são acrescentadas, completando o tri-hexosídeo. A isso se segue uma adição sequencial alternada de açúcares ácidos e aminados (Figura 14.11), e a conversão de alguns resíduos de D-glicuronil a L-iduronil.

E. Adição de grupos sulfato

Depois que o monossacarídeo a ser sulfatado incorporar-se à cadeia oligossacarídica crescente, ocorre a sulfatação dessa cadeia. A fonte de sulfato é o 3'-fosfoadenosil-5'-fosfossulfato (PAPS, uma molécula de AMP com um grupo sulfato ligado ao 5'-fosfato). As *sulfotransferases* determinam a sulfatação da cadeia de carboidratos em sítios específicos. (Nota: um exemplo da síntese de um glicosaminoglicano sulfatado, a condroitina sulfato, é mostrado na Figura 14.11.) O PAPS é também o doador de enxofre na síntese de glicoesfingolipídeos.



Um defeito no processo de sulfatação durante a síntese de cadeias de glicosaminoglicanos resulta em uma de várias doenças autossômicas recessivas (condrodistrofias) que afetam o desenvolvimento adequado e a manutenção do sistema esquelético.

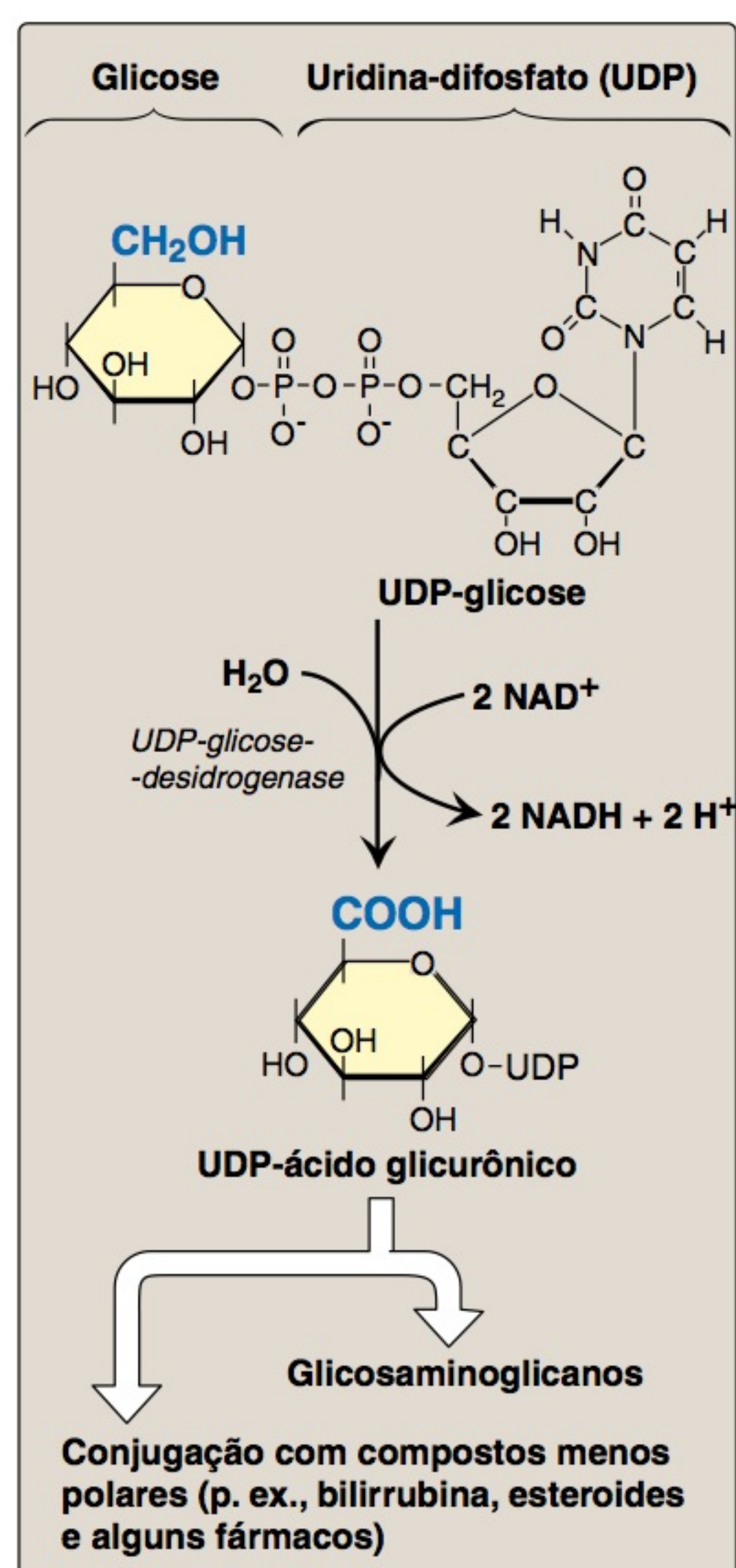


Figura 14.10
Oxidação de UDP-glicose a UDP-ácido glicurônico.

IV. DEGRADAÇÃO DOS GLICOSAMINOGLICANOS

Os glicosaminoglicanos são degradados nos lisossomos, que contêm enzimas hidrolíticas mais ativas em pH de aproximadamente 5. (Nota: assim sendo, essas enzimas, como um grupo, são denominadas de hidrolases ácidas.) O baixo pH ótimo é um mecanismo de proteção, pois impede que as enzimas destruam a célula em caso de vazamento para o citosol, onde o pH é neutro. Com ex-

* N. de T. Ashkenazi: judeus descendentes de alemães ou europeus do leste.

ceção do queratan sulfato, cuja meia-vida é maior que 120 dias, os glicosaminoglicanos têm meia-vida relativamente curta, desde cerca de três dias para o ácido hialurônico até 10 dias para a condroitina sulfato e o dermatan sulfato.

A. Fagocitose de glicosaminoglicanos extracelulares

Os glicosaminoglicanos, sendo compostos extracelulares ou da superfície celular, para serem degradados, devem primeiro ser envolvidos por uma invaginação da membrana celular (fagocitose), formando uma vesícula dentro da qual ocorre a degradação. A seguir, essa vesícula se funde com um lisossomo, formando uma única vesícula digestiva que degrada os glicosaminoglicanos de forma eficaz (veja a p. 150 para uma discussão sobre a fagocitose).

B. Degradação lisossomal dos glicosaminoglicanos

A degradação lisossomal dos glicosaminoglicanos requer um grande número de *hidrolases ácidas* para a digestão completa. Inicialmente, as cadeias polissacarídicas são clivadas por *endoglicosidases*, produzindo oligossacarídeos. A degradação posterior dos oligossacarídeos ocorre sequencialmente, a partir da extremidade não redutora de cada cadeia (veja a p. 127), de modo que o último grupo (sulfato ou açúcar) acrescentado durante a síntese é o primeiro a ser removido. Exemplos de algumas dessas enzimas e das ligações que elas hidrolisam são mostrados na Figura 14.12.

V. MUCOPOLISSACARIDOSES

As mucopolissacaridoses são doenças hereditárias (1:25.000 nascimentos) causadas por deficiência em uma das *hidrolases* lisossomais normalmente envolvidas na degradação de heparan sulfato e/ou dermatan sulfato (Figura 14.12). Elas são doenças progressivas caracterizadas pelo acúmulo de glicosaminoglicanos em vários tecidos, provocando sintomas variados, como deformações esqueléticas e da matriz extracelular e retardo mental. As crianças homozigotas para uma dessas doenças são aparentemente normais ao nascer, mas sua situação se deteriora gradativamente. Em casos graves, a morte ocorre na infância. Todas as deficiências são herdadas de forma autossômica recessiva, com exceção da síndrome de Hunter, que é ligada ao cromossomo X. A degradação lisossomal incompleta dos glicosaminoglicanos resulta na presença de oligossacarídeos na urina. Esses fragmentos podem, então, ser utilizados para diagnosticar o tipo específico de mucopolissacaridose, identificando-se a estrutura presente na extremidade não redutora do oligossacarídeo. Esse resíduo teria sido o substrato da enzima deficiente. O diagnóstico é confirmado medindo-se o nível celular das *hidrolases* lisossomais do paciente. Transplantes de medula óssea e de sangue do cordão umbilical têm sido utilizados para tratar as síndromes de Hurler e de Hunter; os macrófagos transplantados produzem as enzimas necessárias para degradar glicosaminoglicanos no espaço extracelular. A Terapia de Reposição Enzimática (TER) está disponível para as duas síndromes.

Além da degradação dos glicosaminoglicanos, *endo- e exoglicosidases* lisossomais também participam da degradação das glicoproteínas (veja p. 170) e dos glicolipídeos (veja p. 210). Deficiências nessas enzimas resultam no acúmulo de oligossarídeos parcialmente degradados nos lisossomos, levando a um dano celular e tecidual.

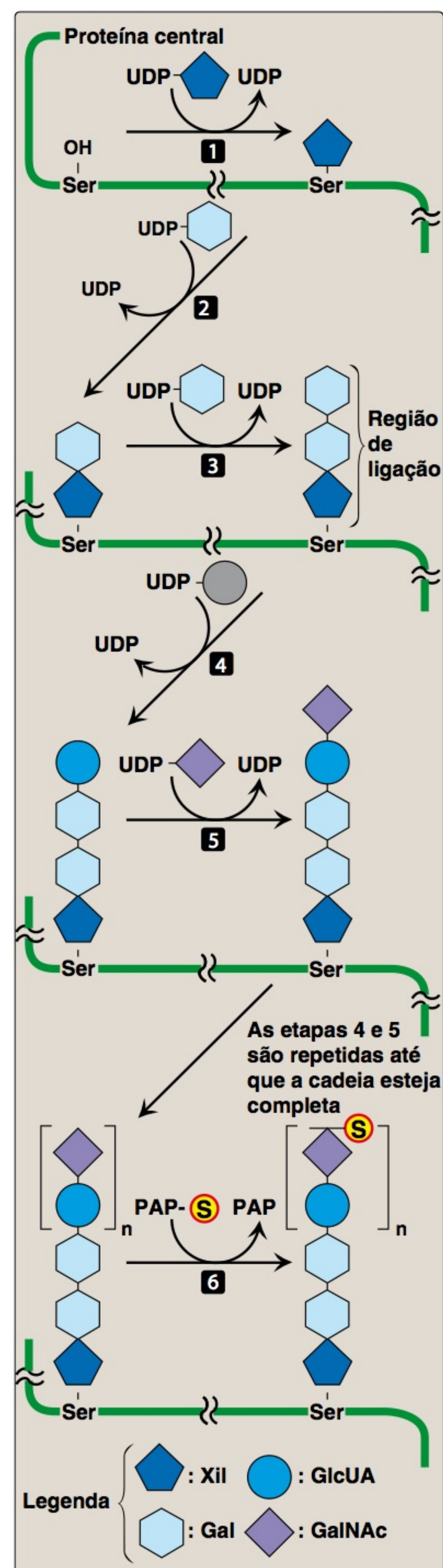
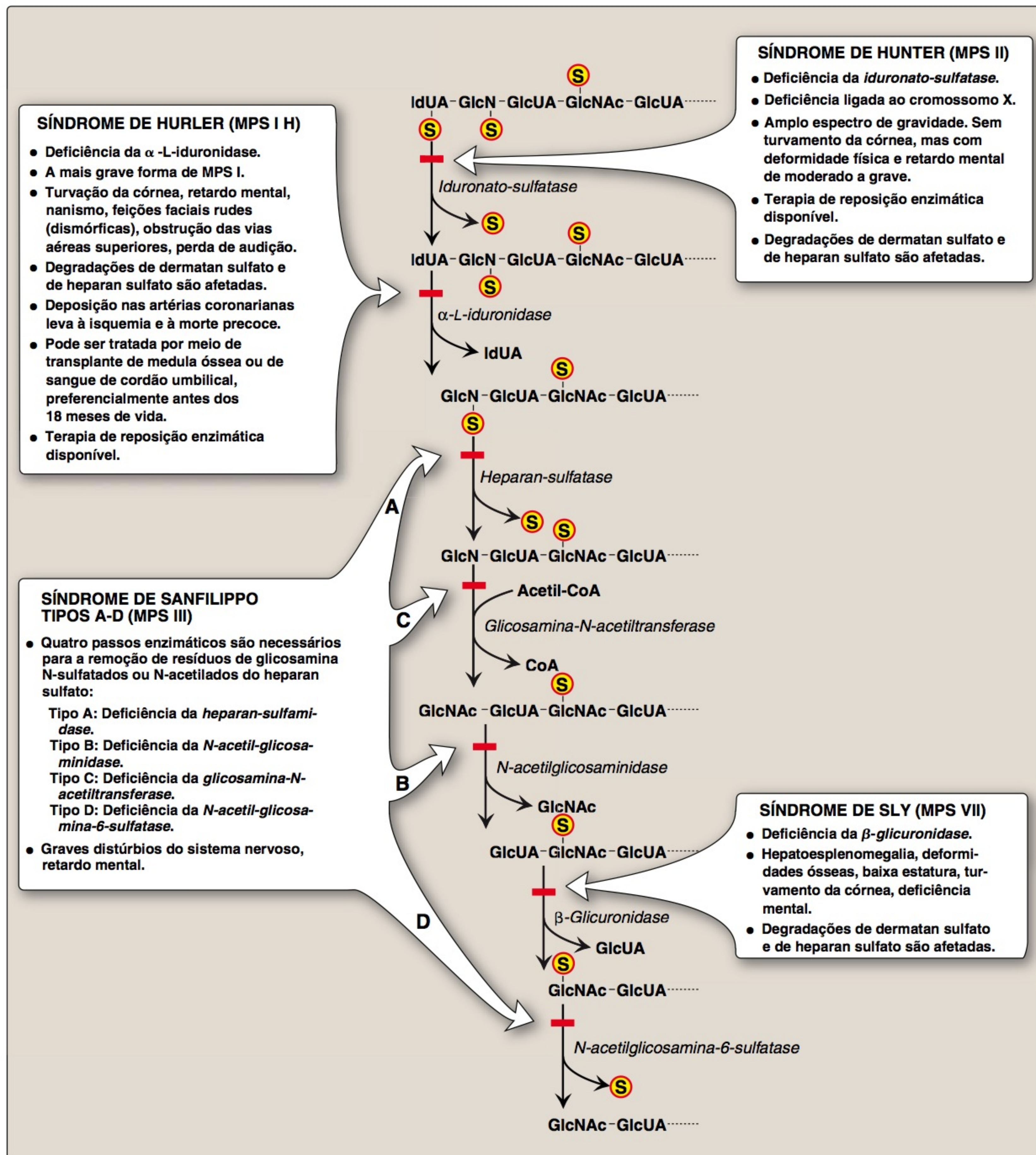


Figura 14.11
Síntese de condroitina sulfato.

**Figura 14.12**

Degradação do glicosaminoglicano heparan sulfato por enzimas lisossomais, indicando os sítios de deficiências enzimáticas em algumas mucopolissacaridoses. (Nota: deficiências na degradação de queratan sulfato resultam nas síndromes de Morquio A e B.)

VI. VISÃO GERAL DAS GLICOPROTEÍNAS

Glicoproteínas são proteínas às quais oligossacarídeos estão ligados de forma covalente. Elas diferem dos proteoglicanos pelo fato de sua cadeia oligossacarídica ser relativamente pequena (geralmente de dois a 10 resíduos de oses, embora possa ser mais longa), ao passo que essa cadeia pode ser muito longa nos glicosaminoglicanos (veja a p. 157). Além disso, enquanto os glicosaminoglicanos têm unidades dissacarídicas repetidas, os carboidratos das glicoproteínas não têm repetições em série. As cadeias oligossacarídicas das glicoproteínas são muitas vezes ramificadas, em vez de lineares, e podem ou não ter carga negativa. As glicoproteínas contêm quantidades altamente variáveis de carboidratos. Por exemplo, a imunoglobulina IgG contém menos de 4% de sua massa como carboidrato, enquanto a glicoproteína gástrica humana (mucina) tem mais de 80% de carboidrato. Glicoproteínas ligadas à membrana participam de vários fenômenos celulares, incluindo o reconhecimento na superfície celular (por outras células, hormônios e vírus); a antigenicidade de superfície celular (como os antígenos de grupo sanguíneo); e a constituição da matriz extracelular e das mucinas dos tratos gastrintestinal e urogenital, onde atuam como lubrificantes biológicos protetores. Além disso, quase todas as proteínas globulares presentes no plasma humano são glicoproteínas. (Veja a Figura 14.13 para um resumo de algumas das funções das glicoproteínas.)

VII. ESTRUTURA DOS OLIGOSSACARÍDEOS DAS GLICOPROTEÍNAS

Os componentes oligossacarídicos das glicoproteínas são geralmente heteropolímeros ramificados, formados basicamente de D-hexoses, com a adição, em alguns casos, de ácido neuramínico e de L-fucose – uma 6-desoxi-hexose.

A. Estrutura da ligação entre o carboidrato e a proteína

O oligossacarídeo pode estar ligado à proteína por uma ligação N- ou O-glicosídica (veja a p. 86). No primeiro caso, a cadeia oligossacarídica está unida ao grupo amida da cadeia lateral de uma asparagina e, no segundo, ao grupo hidroxila da cadeia lateral de uma serina ou de uma treonina. (Nota: no caso do colágeno, há uma ligação O-glicosídica entre galactose ou glicose e o grupo hidroxila da hidroxilisina [veja a p. 47].)

B. Oligossacarídeos N- e O-ligados

Uma glicoproteína pode conter apenas um tipo de ligação glicosídica (N- ou O-), ou pode ter oligossacarídeos O- e N-ligados dentro da mesma molécula.

1. **Oligossacarídeos O-ligados.** Os oligossacarídeos O-ligados podem conter um ou mais de um açúcar entre uma ampla variedade de açúcares, organizados na forma de cadeias lineares ou ramificadas. Muitos oligossacarídeos O-ligados são encontrados como glicoproteínas componentes de membranas ou em glicoproteínas extracelulares. Por exemplo, oligossacarídeos O-ligados na superfície dos eritrócitos ajudam a fornecer os determinantes dos grupos sanguíneos ABO.

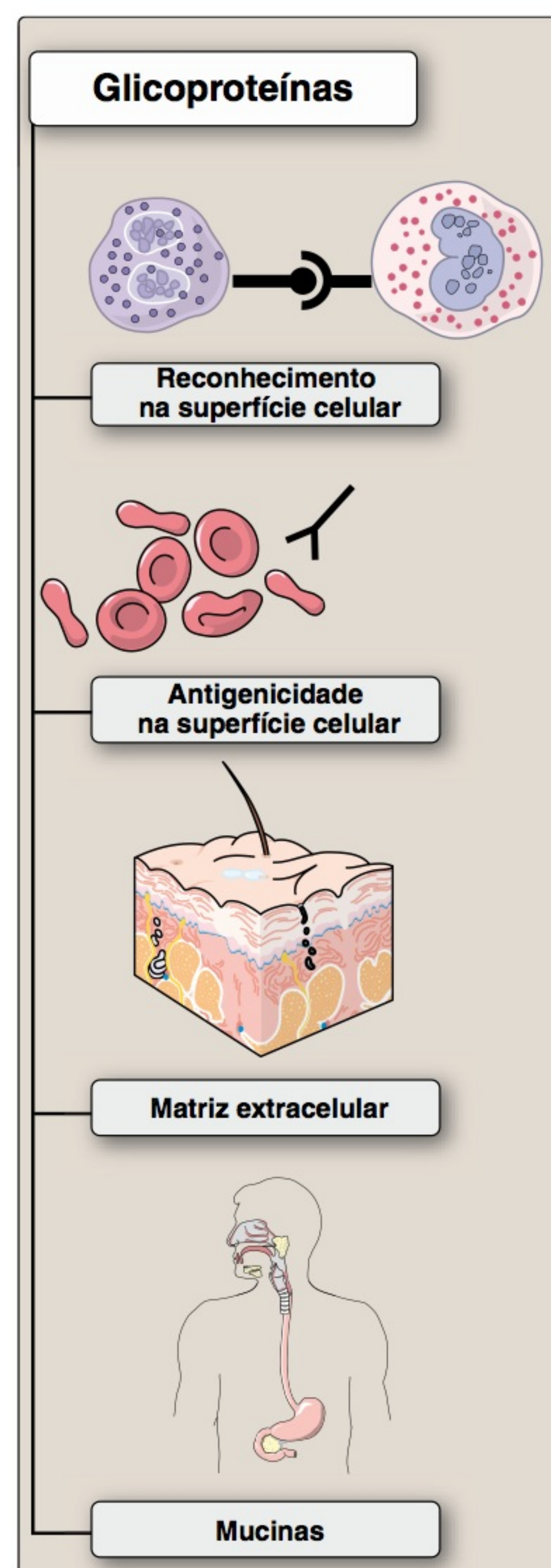
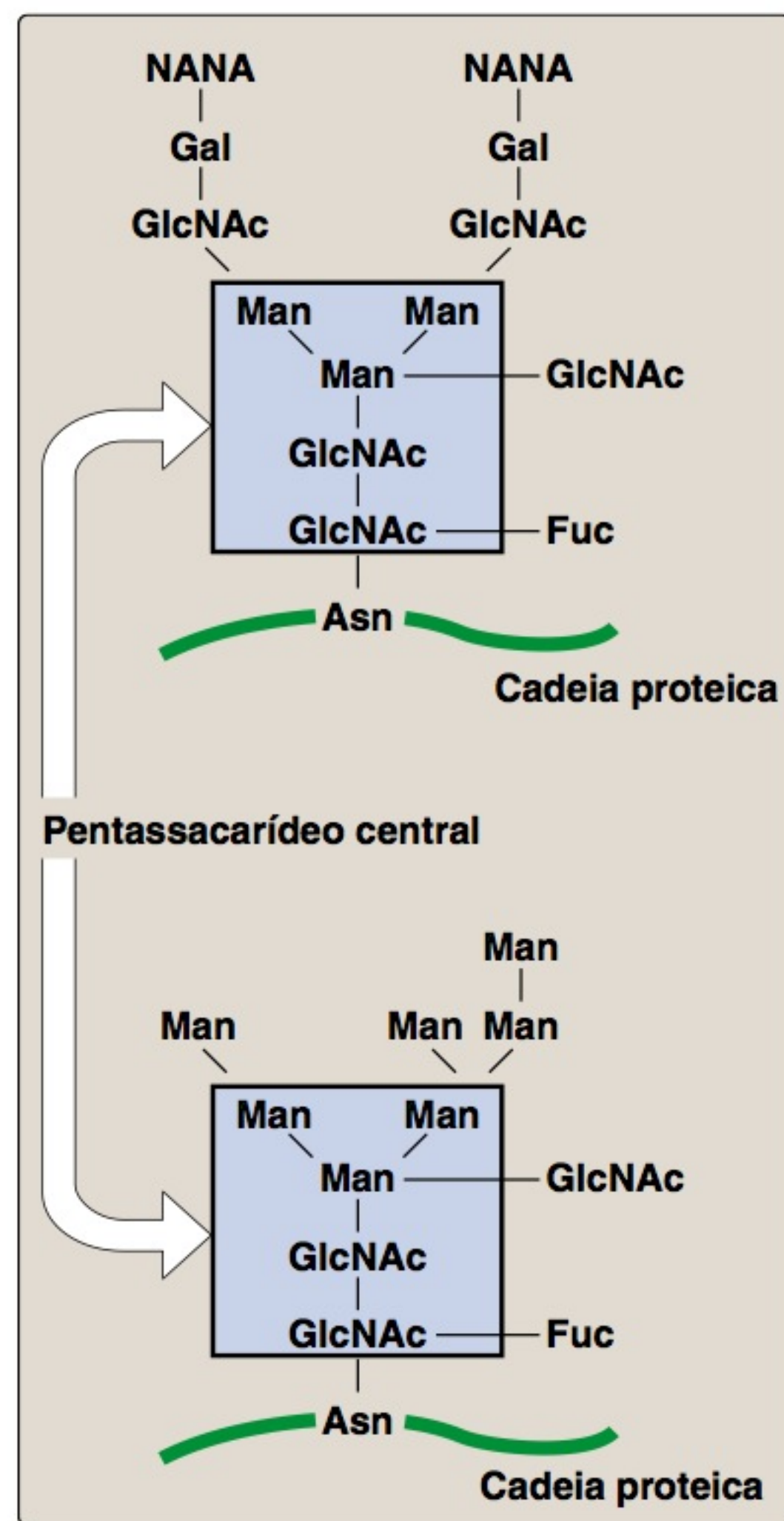


Figura 14.13

Funções das glicoproteínas.

**Figura 14.14**

Oligossacarídeos complexos (parte superior da figura) e ricos em manose (parte inferior da figura). (Nota: membros de cada classe contêm o mesmo pentassacarídeo central.)

- Oligossacarídeos N-ligados.** Os oligossacarídeos N-ligados são de duas grandes classes: os complexos e os ricos em manose. Ambos contêm o mesmo pentassacarídeo central mostrado na Figura 14.14, mas os oligossacarídeos complexos contêm um grupo distinto de açúcares adicionais, por exemplo, N-acetilglicosamina (GlcNAc), L-fucose (Fuc) e ácido N-acetilneuramínico (NANA), enquanto os oligossacarídeos ricos em manose contêm, basicamente, manose (Man).

VIII. SÍNTESE DE GLICOPROTEÍNAS

Proteínas que se destinam ao citoplasma são sintetizadas em ribossomos livres no citosol. Entretanto, as proteínas, incluindo muitas glicoproteínas, que se destinam às membranas celulares, aos lisossomos, ou a serem exportadas da célula, são sintetizadas em ribossomos ligados ao RER. Essas proteínas contêm sequências sinalizadoras específicas, que funcionam como “etiquetas de endereço” moleculares e encaminham as proteínas a seus devidos destinos. Uma sequência sinalizadora hidrofóbica N-terminal inicialmente direciona essas proteínas ao RER, possibilitando que o polipeptídeo em crescimento seja deslocado ao lúmen do RER. A seguir, as proteínas são transportadas por vesículas secretoras ao aparelho de Golgi, que funciona como um centro de triagem (Figura 14.15). No Golgi, aquelas glicoproteínas que devem ser secretadas da célula (ou destinadas aos lisossomos) são empacotadas em vesículas que fundem com a membrana celular (ou lisossomal), liberando seus conteúdos. As glicoproteínas que devem se tornar componentes da membrana celular se integram à membrana do Golgi, a qual forma “brotos” e posteriormente vesículas, que se fundem com a membrana celular, incorporando, assim, as glicoproteínas. (Nota: as glicoproteínas da membrana têm, assim, sua orientação de forma que a porção glicídica fique voltada para o lado de fora da célula – veja a Figura 14.15.)

A. Componentes glicídicos das glicoproteínas

Os precursores dos componentes glicídicos das glicoproteínas são os nucleotídeos-açúcares, os quais incluem UDP-glicose, UDP-galactose, UDP-N-acetilglicosamina e UDP-N-acetilgalactosamina. Além disso, GDP-manose, GDP-L-fucose (sintetizada a partir da GDP-manose) e CMP-ácido N-acetilneuramínico podem doar açúcares à cadeia em crescimento. (Nota: quando o NANA estiver presente, o oligossacarídeo terá uma carga negativa em pH fisiológico.) Os oligossacarídeos são unidos de forma covalente a grupos específicos da cadeia lateral (R) de aminoácidos da proteína, onde a estrutura tridimensional da proteína define se um determinado grupo R de um aminoácido é glicosilado ou não.

B. Síntese dos glicosídeos O-ligados

A síntese dos glicosídeos O-ligados é muito semelhante à dos glicosaminoglicanos (veja a p. 158). Em primeiro lugar, a proteína à qual os oligossacarídeos devem ser unidos é sintetizada no RER e deslocada ao seu lúmen. A glicosilação começa com a transferência de uma N-acetilgalactosamina (a partir de UDP-N-acetilgalactosamina) para um grupo hidroxila da cadeia lateral de um resíduo específico de serina ou treonina.

- Função das glicosiltransferases.** As *glicosiltransferases* responsáveis pela síntese gradual dos oligossacarídeos estão ligadas às membranas do aparelho de Golgi. Elas agem em uma ordem específica, sem usar um molde como na síntese de DNA, RNA ou de proteínas (veja a Unidade VI deste texto), mas reconhecendo a estrutura real do oligossacarídeo em crescimento como o substrato adequado.

C. Síntese dos glicosídeos N-ligados

A síntese de glicosídeos N-ligados ocorre no lúmen do RE e requer a participação do derivado fosforilado do dolicol (dolicol-pirofosfato), um lipídeo da membrana do RE (Figura 14.16). O produto inicial é processado no RE e no Golgi.

1. **Síntese do dolicol-oligossacarídeo.** Em primeiro lugar, como acontece com glicosídeos O-ligados, a proteína é sintetizada no RER e entra no seu lúmen. No entanto, a proteína não é glicosilada com açúcares individuais nessa etapa da síntese; é formado, primeiramente, um oligossacarídeo ligado a lipídeo. Esse lipídeo consiste no dolicol (um lipídeo da membrana do RE com 80 a 100 átomos de carbono de comprimento) unido por meio de uma ligação pirofosfato a um oligossacarídeo contendo N-acetilglicosamina, manose e glicose. Os açúcares acrescentados sequencialmente ao dolicol pelas *glicosil-transferases* de membrana são, em primeiro lugar, N-acetilglicosamina, seguido de manose e glicose (Figura 14.16). O oligossacarídeo com 14 unidades de açúcar é então transferido do dolicol para o N amídico da cadeia lateral de uma asparagina da proteína a ser glicosilada por uma *proteína-oligossacarídeo-transferase* presente no retículo endoplasmático.

Distúrbios congênitos da glicosilação (DCG) são causados principalmente por deficiências na N-glicosilação de proteínas, seja na agregação dos oligossacarídeos (Tipo I) ou no seu processamento (Tipo II).

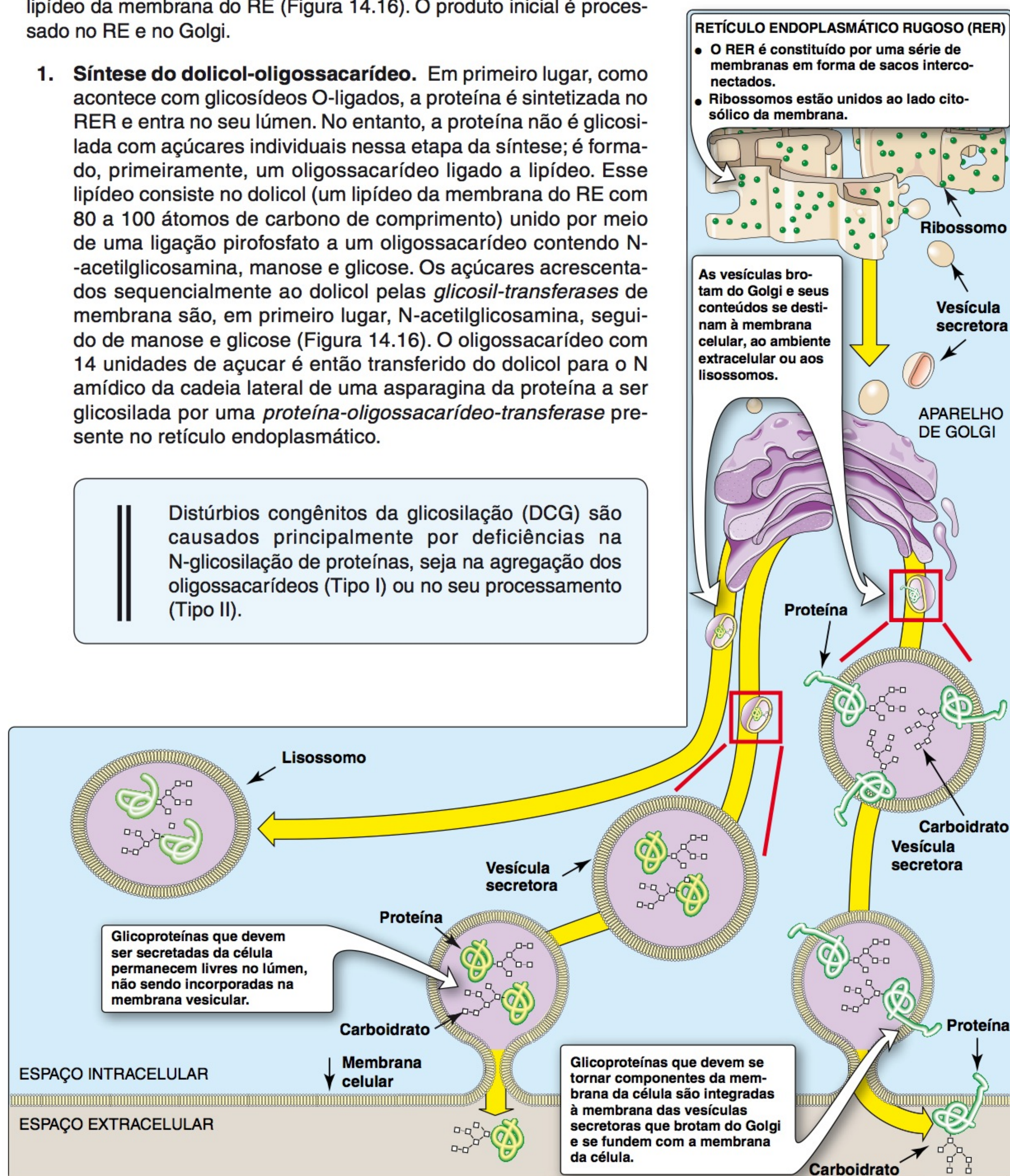
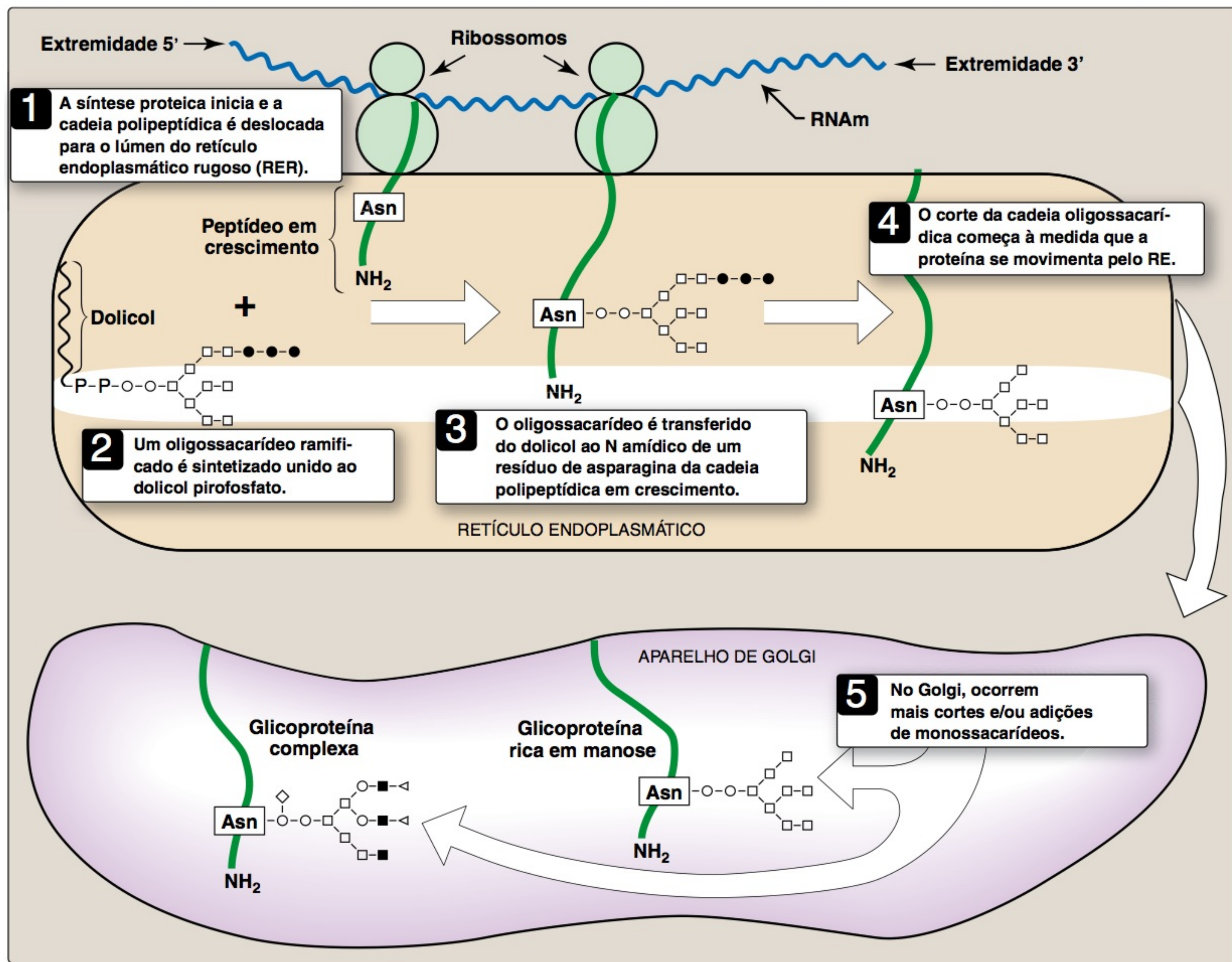


Figura 14.15

Transporte de glicoproteínas pelo aparelho de Golgi e sua subsequente liberação ou incorporação ao lisossomo ou à membrana celular.

**Figura 14.16**

Síntese das N-glicoproteínas. ○ = N-acetilglicosamina; □ = manose; ● = glicose; ■ = N-acetilgalactosamina; ◇ ou ◁ por exemplo, fucose ou ácido N-acetilneuramínico.

2. **Processamento final de oligossacarídeos N-ligados.** Após a incorporação na proteína, o oligossacarídeo N-ligado é processado pela remoção de resíduos manosil e glicosil específicos, à medida que a glicoproteína se movimenta através do RE. Por fim, as cadeias oligossacáridicas são completadas no Golgi por meio da adição de vários açúcares (p. ex., N-acetilglicosamina, N-acetilgalactosamina e outras manoses e, a seguir, fucose ou NANA como grupos terminais) para produzir uma glicoproteína complexa, ou não são mais processadas, deixando cadeias ramificadas, contendo manoses, formando uma glicoproteína rica em manose (Figura 14.16). O destino final das N-glicoproteínas é o mesmo das O-glicoproteínas; por exemplo, podem ser liberadas pelas células ou fazer parte da membrana celular. Além disso, as N-glicoproteínas podem ser translocadas para os lisossomos. (Nota: a glicosilação não enzimática de proteínas é conhecida como glicação – veja a p. 345.)

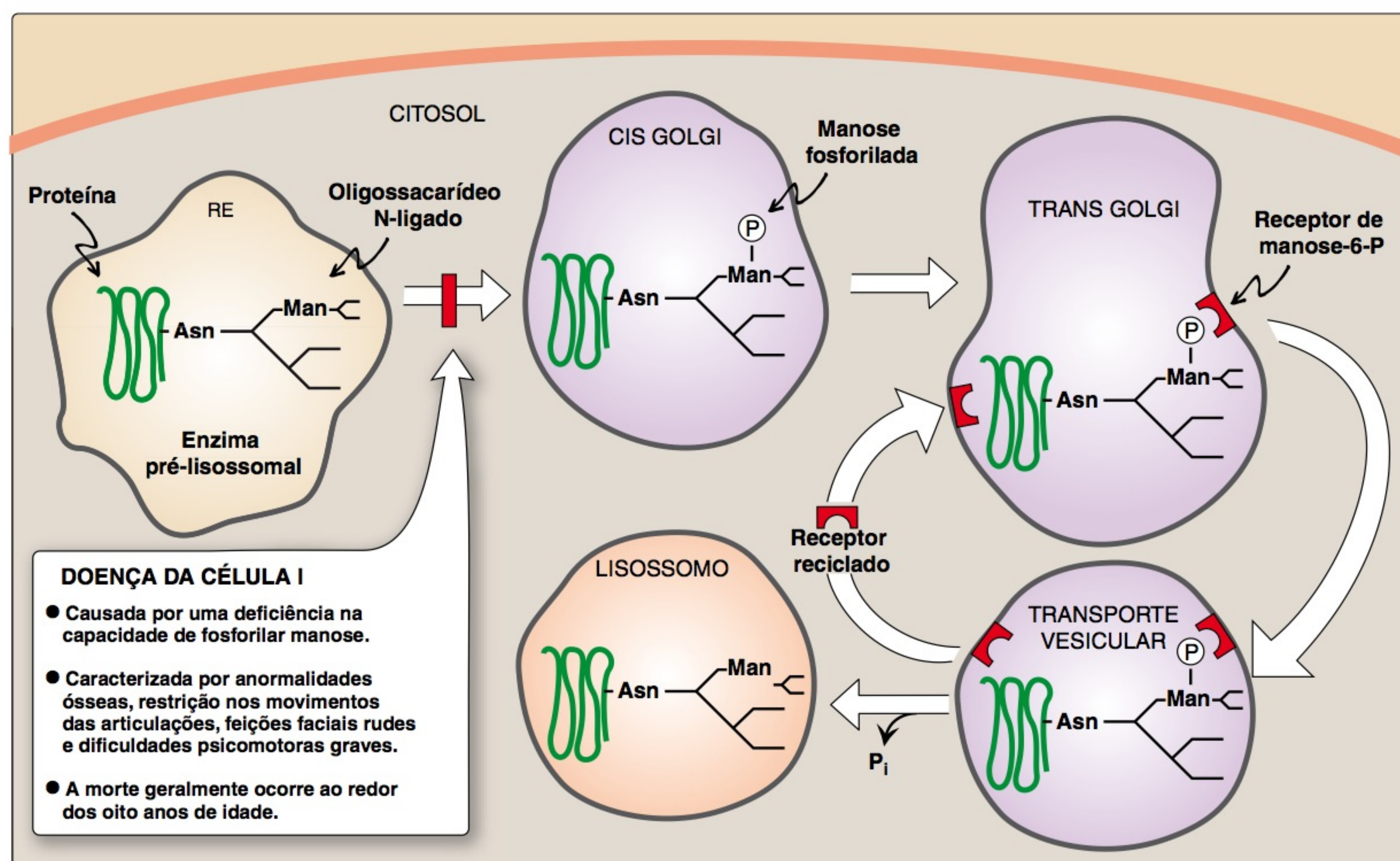


Figura 14.17

Mecanismo de transporte de N-glicoproteínas aos lisossomos.

- Enzimas destinadas aos lisossomos.** As N-glicoproteínas, ao serem processadas no Golgi, podem ser fosforiladas em um ou mais resíduos específicos de manose. Os receptores de manose-6-P, localizados no aparelho de Golgi, ligam-se aos resíduos de manose-6-P dessas enzimas-alvo, resultando no seu empacotamento em vesículas e no transporte aos lisossomos. A doença da célula I é uma síndrome rara, em que as enzimas *hidrolases ácidas*, normalmente encontradas nos lisossomos, estão ausentes, resultando em acúmulo de substratos normalmente degradados pelas enzimas lisossomais nessas vesículas. (Nota: a doença da célula I tem esse nome pela presença de grandes corpos de inclusão nas células de pacientes com essa doença.) Além disso, quantidades elevadas de enzimas lisossomais são encontradas no plasma desses pacientes, sugerindo que o processo de transporte direcionado aos lisossomos (e não a via sintética dessas enzimas) esteja deficiente. Já foi determinado que indivíduos com a doença da célula I não têm a capacidade enzimática de fosforilar os resíduos de manose das potenciais enzimas lisossomais, causando destinação incorreta dessas proteínas a sítios extracelulares, em lugar de encaminhá-las às vesículas lisossomais (Figura 14.17). A doença da célula I, uma doença de armazenamento lisossomal, se caracteriza por anormalidades ósseas, restrição nos movimentos das articulações, feições faciais rudes (dismórficas) e dificuldades psicomotoras graves. A morte geralmente ocorre em torno dos 8 anos de idade.

IX. DEGRADAÇÃO LISOSSOMAL DE GLICOPROTEÍNAS

A degradação de glicoproteínas é semelhante à dos glicosaminoglicanos (veja a p. 162). Geralmente, cada *hidrolase ácida* lisossomal é específica para a remoção de um componente da glicoproteína. Essas enzimas são, basicamente, exoenzimas que removem seus respectivos grupos em sequência, na ordem inversa de sua incorporação (“último a entrar, primeiro a sair”). Se qualquer enzima degradativa estiver faltando, a degradação por parte das outras exoenzimas não pode continuar. Um grupo de doenças genéticas autossômicas recessivas bastante raras, chamadas de doenças do armazenamento de glicoproteínas (oligossacaridoses), causadas pela deficiência de uma das enzimas degradativas, resulta no acúmulo de estruturas parcialmente degradadas nos lisossomos. Por exemplo, α -manose tipo 1 é uma deficiência progressiva e fatal da enzima α -*manosidase*. A apresentação da doença é semelhante à da síndrome de Hurler e uma deficiência imunitária também é observada. Fragmentos de oligossacarídeos ricos em manose podem ser detectados na urina. O diagnóstico é realizado por ensaio enzimático.

X. RESUMO DO CAPÍTULO

Os glicosaminoglicanos são **longas cadeias de heteropolissacarídeos lineares, de carga negativa**, geralmente compostas de uma **unidade de dissacarídeo que se repete** [açúcar ácido – açúcar aminado]_n (Figura 14.18). O **amino açúcar** é **D-glicosamina** ou **D-galactosamina**; em ambas, o grupo amino costuma ser acetilado, eliminando assim a sua carga positiva. O amino açúcar pode também ser sulfatado no carbono 4 ou 6 ou em um nitrogênio não acetilado. O **açúcar ácido** é o **ácido D-glicurônico** ou seu epímero no carbono 5, o **ácido L-idurônico**. Esses compostos associam-se a **grandes quantidades de água**, produzindo assim a matriz semelhante a um gel que forma a base da **substância fundamental** do organismo. As propriedades viscosas e lubrificantes das **secreções das mucosas** são também devidas à presença de glicosaminoglicanos, o que levou esses compostos a serem originalmente chamados de **mucopolissacarídeos**. Como componentes essenciais da superfície das células, os glicosaminoglicanos cumprem um importante papel na **sinalização célula-célula** e na **adesão celular**. Há **seis principais classes** de glicosaminoglicanos, incluindo **condroitina 4- e 6-sulfato, queratan sulfato, dermatan sulfato, heparina, heparan sulfato e ácido hialurônico**. Todos os glicosaminoglicanos, com exceção do ácido hialurônico, encontram-se unidos covalentemente a proteínas, formando **monômeros de proteoglicanos**, que consistem em uma **proteína central** à qual as cadeias lineares de glicosaminoglicanos são unidas covalentemente. Os monômeros de proteoglicanos se associam a uma molécula de **ácido hialurônico** para formar **agregados de proteoglicanos**. Os glicosaminoglicanos são sintetizados no **Golgi**. As cadeias de polissacarídeos são alongadas pela adição sequencial alternada de açúcares ácidos e açúcares aminados, doados por seus respectivos **UDP-derivados**. O **D-glicuronato pode ser epimerizado** produzindo o **L-iduronato**. A última etapa da síntese é a sulfatação de alguns dos amino-açúcares. A fonte do sulfato é o **3'-fosfoadenosil-5'-fosfossulfato**. Os glicosaminoglicanos são **degradados** pelas **hidrolases lisossomais**. Os oligossacarídeos são inicialmente clivados da proteína e, a seguir, degradados sequencialmente a partir da extremidade não redutora de cada cadeia. Uma **deficiência** de qualquer das hidrolases resulta em uma **mucopolissacaridose**. Essas são doenças hereditárias, em que os glicosaminoglicanos se acumulam nos tecidos, causando sintomas como **deformidades nos ossos** e na **matriz extracelular** e **retardo mental**. Entre essas doenças genéticas estão as **síndromes de Hunter e de Hurler**. As **glicoproteínas** são proteínas que possuem **oligossacarídeos** ligados covalentemente. Elas diferem dos proteoglicanos pois a cadeia oligossarídica da glicoproteína é relativamente curta (em geral de 2 a 10 resíduos de açúcar, embora possa ser mais longa), pode ser ramificada e não têm repetições de dissacarídeos em série como os glicosaminoglicanos. As glicoproteínas **ligadas à membrana** participam de um amplo espectro de fenômenos celulares, incluindo **reconhecimento da superfície celular** (por outras células, hormônios e vírus), **antigenicidade celular** (p. ex., antígenos de grupos sanguíneos) e como componentes da **matriz extracelular** e das **mucinas** dos tratos gastrointestinal e urogenital, onde atuam como lubrificantes biológicos protetores. Além disso, quase todas as proteínas globulares presentes no plasma humano são glicoproteínas.

As glicoproteínas são **sintetizadas** no **retículo endoplasmático** e no **aparelho de Golgi**. Os precursores dos componentes glicídicos das glicoproteínas são os **nucleotídeos-açúcares**. As **O-glicoproteínas** são sintetizadas no Golgi pela transferência sequencial de açúcares a partir de seus nucleotídeos carregadores para a proteína. As **N-glicoproteínas** contêm quantidades variáveis de **manose**. São sintetizadas pela transferência de um oligossacarídeo pré-formado, desde seu carreador lipídico presente na membrana do RE, o **dolicol**, até a proteína. Uma deficiência na fosforilação dos resíduos de manose em pré-enzimas N-glicoproteicas destinadas aos lisossomos resulta na **doença da célula I**. As glicoproteínas são degradadas nos lisossomos por hidrolases ácidas. Uma deficiência em qualquer dessas enzimas resulta em **doenças de armazenamento de glicoproteínas (oligossacaridoses)**, causando acúmulo de estruturas parcialmente degradadas no lisossomo.

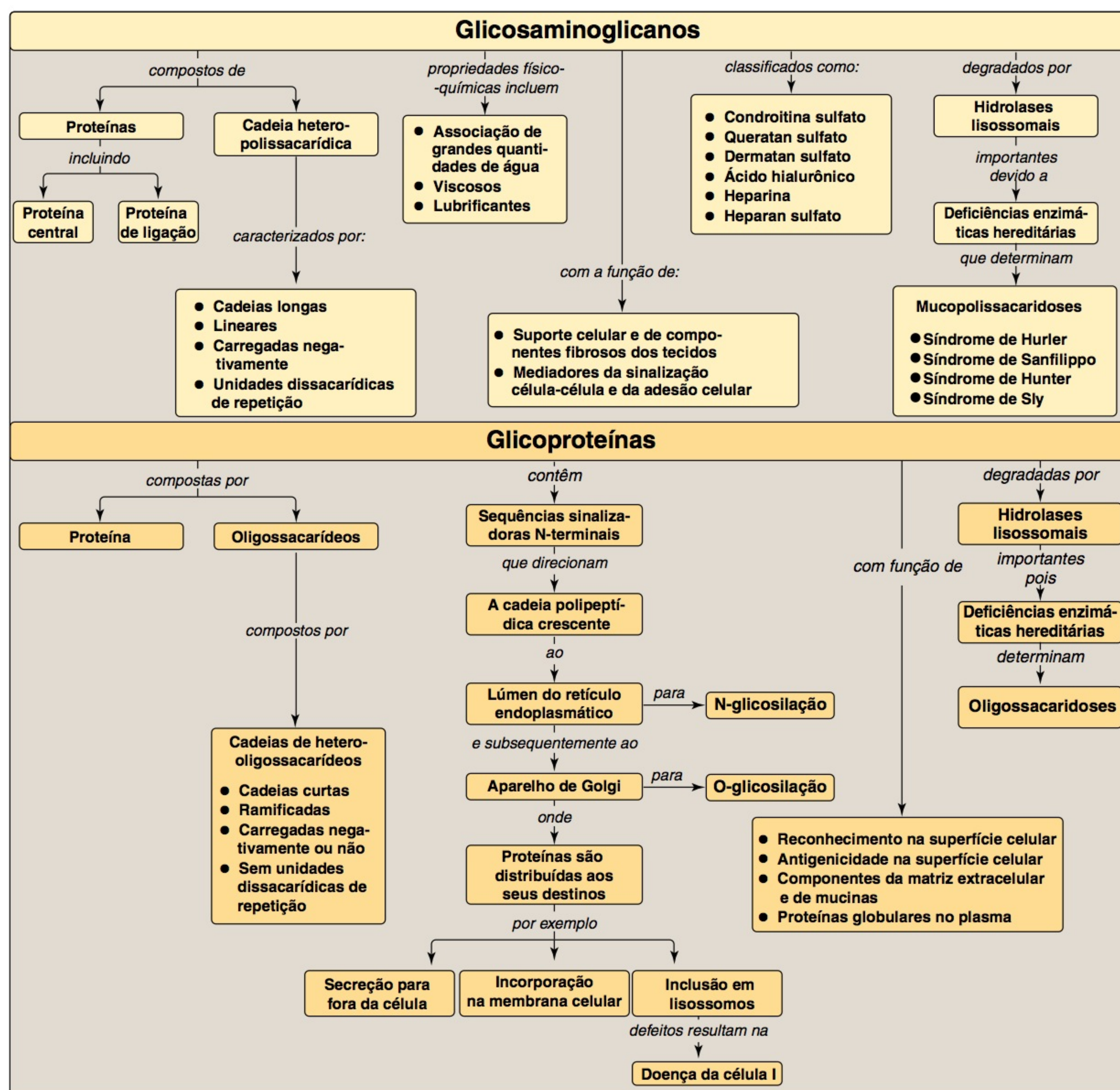


Figura 14.18

Mapa de conceitos-chave para glicosaminoglicanos e glicoproteínas.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 14.1 Mucopolissacaridoses são doenças genéticas de armazenamento lisossomal. Elas são causadas por:

A. Uma maior velocidade de síntese do componente glicídico dos proteoglicanos.
 B. Síntese de polissacarídeos com estrutura alterada.
 C. Defeitos na degradação de GAGs nos proteoglicanos.
 D. Síntese de quantidades extraordinariamente pequenas de proteína central.
 E. Uma quantidade insuficiente de enzimas proteolíticas.

Resposta correta = C. Nas mucopolissacaridoses, a síntese de proteoglicanos não é afetada, seja na estrutura ou na quantidade de matéria sintetizada. As doenças são causadas pela deficiência em uma das enzimas hidrolíticas lisossomais responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos (e não da proteína central).

- 14.2 A presença do seguinte composto na urina de um paciente sugere deficiência em qual das enzimas listadas?



A. Galactosidase
 B. Glicosidase
 C. Glicuronidase
 D. Manosidase
 E. Sulfatase

Resposta correta = E. A degradação de glicoproteínas segue a regra “último a entrar, primeiro a sair”. Como a sulfatação é o último passo na síntese dessa sequência, é necessária uma sulfatase para o próximo passo na degradação do composto mostrado.

- 14.3 Um bebê de 8 meses de idade com traços faciais rudes, abnormalidades ósseas, atraso no crescimento e no desenvolvimento cerebral é diagnosticado com doença da célula I, com base em suas manifestações clínicas, seus exames histológicos e bioquímicos. A doença da célula I é consequência:

A. Do decréscimo de produção de glicoproteínas de superfície celular.
 B. Da incapacidade de ubiquitinar proteínas.
 C. Da incapacidade de glicosilar proteínas.
 D. Do incorreto direcionamento das proteínas lisossomais.
 E. Do aumento da síntese de proteoglicanos.

Resposta correta = D. A doença da célula I é uma doença de armazenamento lisossomal causada por um defeito no gene que inicia o sinal da síntese de manose-6-fosfato, a qual direciona as hidrolases ácidas para o lisossomo, resultando no acúmulo de substâncias no lisossomo, devido a um decréscimo nas suas degradações. Nenhuma outra alternativa está relacionada com a doença I ou com a função lisossomal.

- 14.4 Diferencie glicoproteínas de proteoglicanos.

Resposta = Glicoproteínas são proteínas que possuem cadeias oligossacarídicas pequenas e ramificadas ligadas. Proteoglicanos são constituídos por uma proteína central à qual estão ligadas cadeias longas e lineares de glicosaminoglicanos (GAG). GAG são complexos grandes de heteropolissacarídeos carregados negativamente, formados por unidades repetidas de dissacarídeos [açúcar ácido – açúcar aminado]_n.

Metabolismo dos Lipídeos da Dieta

I. VISÃO GERAL

Os lipídeos constituem um grupo heterogêneo de moléculas orgânicas insolúveis em água (hidrofóbicas) que podem ser extraídas dos tecidos por solventes apolares (Figura 15.1). Devido a sua insolubilidade em soluções aquosas, os lipídeos do corpo encontram-se geralmente compartimentalizados, como no caso de lipídeos associados à membrana e de gotículas de triacilgliceróis nos adipócitos brancos, ou são transportados no plasma em associação com proteínas, como com a albumina ou nas partículas de lipoproteínas (veja a p. 227). Os lipídeos são uma importante fonte de energia para o corpo e também fornecem a barreira hidrofóbica que permite a partição dos conteúdos aquosos das células e de estruturas subcelulares. Os lipídeos também atuam em outras funções no organismo. Por exemplo, certas vitaminas lipossolúveis têm funções regulatórias ou de coenzimas, e as prostaglandinas e os hormônios esteroides exercem papéis fundamentais no controle da homeostasia do organismo. Não é surpreendente que deficiências ou desequilíbrios do metabolismo de lipídeos possam levar a alguns dos principais problemas clínicos observados pelos médicos, como aterosclerose e obesidade.

II. DIGESTÃO, ABSORÇÃO, SECREÇÃO E UTILIZAÇÃO DOS LIPÍDEOS DA DIETA

Nos Estados Unidos, um adulto consome em média cerca de 81 g de lipídeos por dia, dos quais normalmente mais de 90% são constituídos por triacilgliceróis (TAG, inicialmente chamados triglicerídeos). O restante dos lipídeos da dieta consiste principalmente em colesterol, ésteres de colesterol, fosfolipídeos e ácidos graxos não esterificados ("livres"). A digestão dos lipídeos da dieta está resumida na Figura 15.2.

A. Processamento dos lipídeos da dieta no estômago

A digestão dos lipídeos começa no estômago, catalisada por uma lipase estável em meio ácido (*lipase lingual*) que se origina de glândulas locali-

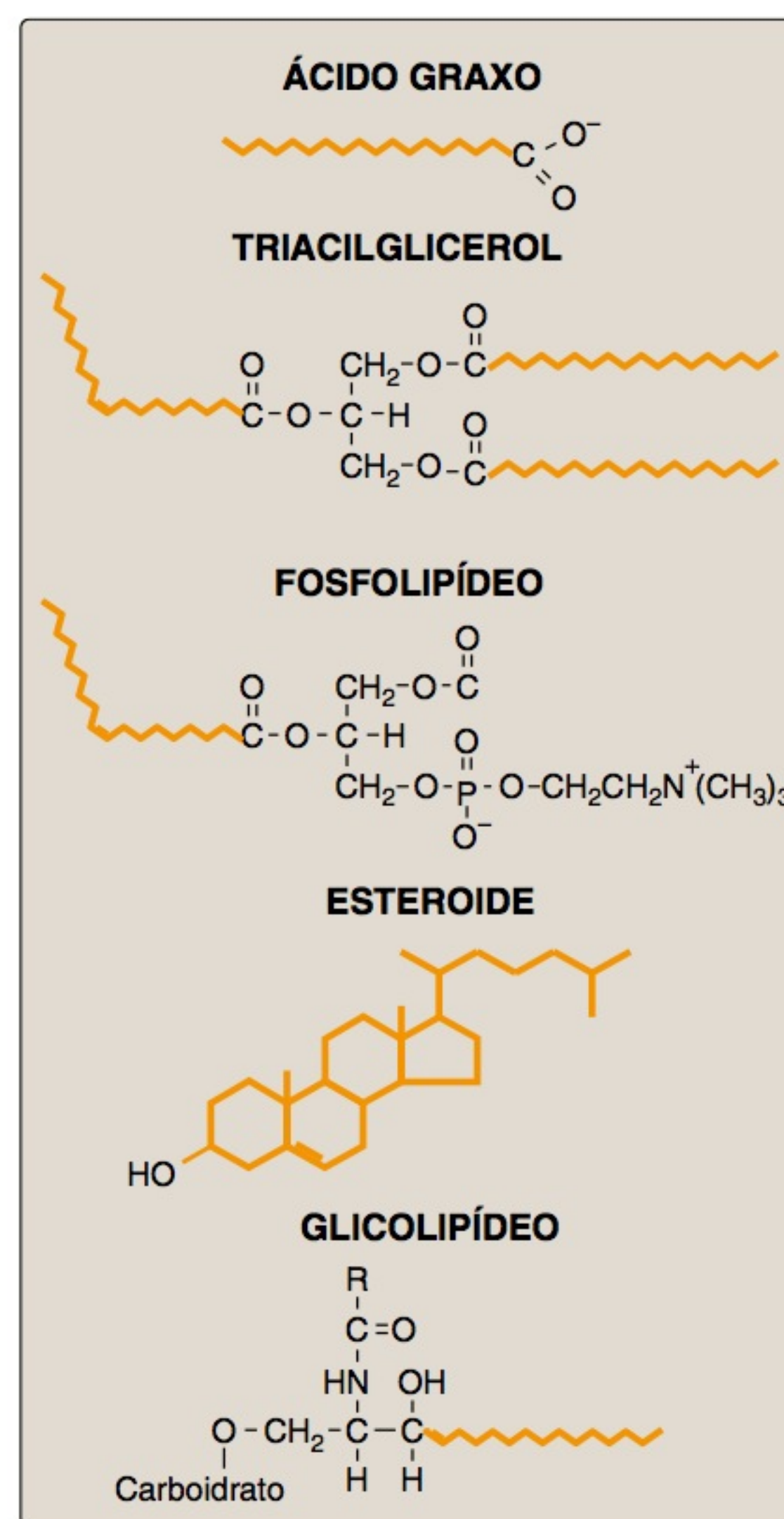
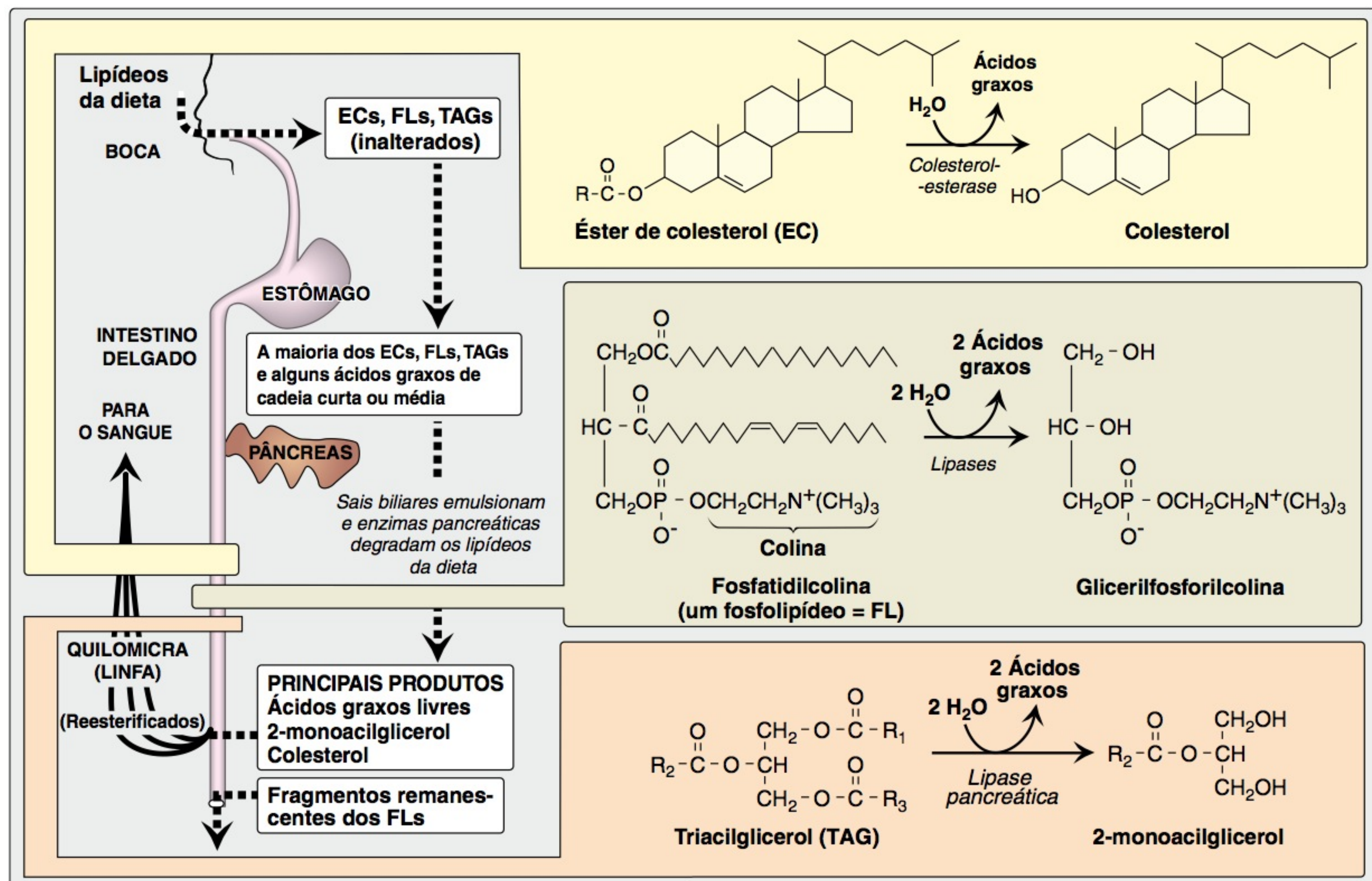


Figura 15.1

Estruturas de algumas classes comuns de lipídeos. As porções hidrofóbicas das moléculas estão mostradas em laranja.

**Figura 15.2**

Visão geral da digestão dos lipídeos.

zadas na base da língua. As moléculas de TAG, particularmente aquelas que contêm ácidos graxos de cadeia curta ou média (com menos de 12 carbonos, como os encontrados na gordura do leite), são os alvos principais dessa enzima. Esses mesmos TAGs são degradados também por outra lipase, a *lipase gástrica*, secretada pela mucosa gástrica. Ambas as enzimas são relativamente estáveis em meio ácido, com pH ótimo entre 4 e 6. Essas “*lipases ácidas*” desempenham um papel especialmente importante na digestão de lipídeos em neonatos, para quem a gordura do leite é a principal fonte de calorías. Elas também se tornam importantes enzimas digestivas em indivíduos com insuficiência pancreática, como os portadores de fibrose cística (veja a seguir). As *lipases lingual e gástrica* ajudam esses pacientes a degradar moléculas de TAG (em especial, aquelas com ácidos graxos de cadeia curta a média), apesar da ausência completa ou parcial da *lipase pancreática* (veja a seguir).

1. **Fibrose cística (FC).** Esta é a doença genética letal mais comum em descendentes de caucasianos do norte da Europa e tem uma prevalência de cerca de 1:3.000 nascimentos. Essa doença autossômica recessiva é causada por mutações no gene para a proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (RTFC), que funciona como canal de cloreto no epitélio. A RTFC defeituosa resulta na redução da secreção de cloreto e no aumento da reabsorção de sódio e água. No pâncreas, a hidratação diminuída resulta no espessamento das secreções, de tal maneira que as enzimas pancreáticas não são capazes de alcançar o intestino, levando à insuficiência pancreática. O tratamento inclui substituição dessas enzimas e suplementação com vitaminas lipossolúveis. (Nota: a FC também causa infecções crônicas nos pulmões com doença pulmonar progressiva.)

B. Emulsificação dos lipídeos da dieta no intestino delgado

O processo crítico de emulsificação dos lipídeos da dieta ocorre no duodeno. A emulsificação aumenta a área da superfície das gotículas de lipídeos hidrofóbicos, de maneira que as enzimas digestivas, as quais trabalham na interface da gotícula com a solução aquosa que a envolve, possam agir com eficiência. A emulsificação é obtida por dois mecanismos complementares, a saber, o uso das propriedades detergentes dos sais biliares e a mistura mecânica devida ao peristaltismo. Os sais biliares, produzidos no fígado e armazenados na vesícula biliar, são derivados do colesterol (veja a p. 224). Eles consistem em uma estrutura em anéis de esterol com cadeia lateral, à qual uma molécula de glicina ou taurina está covalentemente ligada por uma ligação amida (Figura 15.3). Esses agentes emulsificantes interagem com as partículas de lipídeos da dieta e com os conteúdos aquosos do duodeno, estabilizando assim as partículas à medida que elas se tornam menores e impedindo que coalesçam. Uma discussão mais completa do metabolismo dos sais biliares é encontrada na p. 225.

C. Degradação dos lipídeos da dieta por enzimas pancreáticas

Os TAG, ésteres de colesterol e fosfolipídeos da dieta são degradados enzimaticamente (“digeridos”) por enzimas pancreáticas, cuja secreção é hormonalmente controlada.

1. **Degradação de TAG.** As moléculas de TAG são muito grandes para serem captadas eficientemente pelas células mucosas das vilosidades intestinais. Portanto, elas sofrem a ação de uma esterase, a *lipase pancreática*, que remove ácidos graxos preferencialmente dos carbonos 1 e 3. Assim, os principais produtos da hidrólise são uma mistura de 2-monoacilglicerol e ácidos graxos livres (Figura 15.2). (Nota: esta enzima é encontrada em altas concentrações em secreções pancreáticas [2 a 3% da proteína total presente] e é muito eficiente cataliticamente, assegurando, dessa forma, que somente uma grave deficiência pancreática, como aquela observada na fibrose cística, resultaria em má absorção significativa de gordura.) Uma segunda proteína, a *colipase*, também secretada pelo pâncreas, liga-se à *lipase* na razão de 1:1 e a ancora na interface lipídeo-água. A *colipase* restabelece a atividade da *lipase* na presença de substâncias inibidoras, como os ácidos biliares que ligam as micelas. (Nota: a *colipase* é secretada como o zimogênio pró-colipase, ativado no intestino pela *tripsina*.) Orlistat, um fármaco antiobesidade, inibe as *lipases gástrica e pancreática*, diminuindo, desse modo, a absorção de gorduras, resultando na perda de peso.¹
2. **Degradação de ésteres de colesterol.** A maior parte do colesterol da dieta está presente na forma livre (não esterificado), com 10 a 15% presentes na forma esterificada. Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela *hidrolase dos ésteres de colesterol (colesterol-esterase)* pancreática, que produz colesterol e ácidos graxos livres (Figura 15.2). A atividade da *hidrolase dos ésteres de colesterol* é muito aumentada na presença de sais biliares.
3. **Degradação de fosfolipídeos.** O suco pancreático é rico na pró-enzima da *fosfolipase A₂* que, como a pró-colipase, é ativada pela *tripsina* e, como a *hidrolase dos ésteres de colesterol*, necessita de sais biliares para sua atividade ótima. A *fosfolipase A₂* remove um ácido

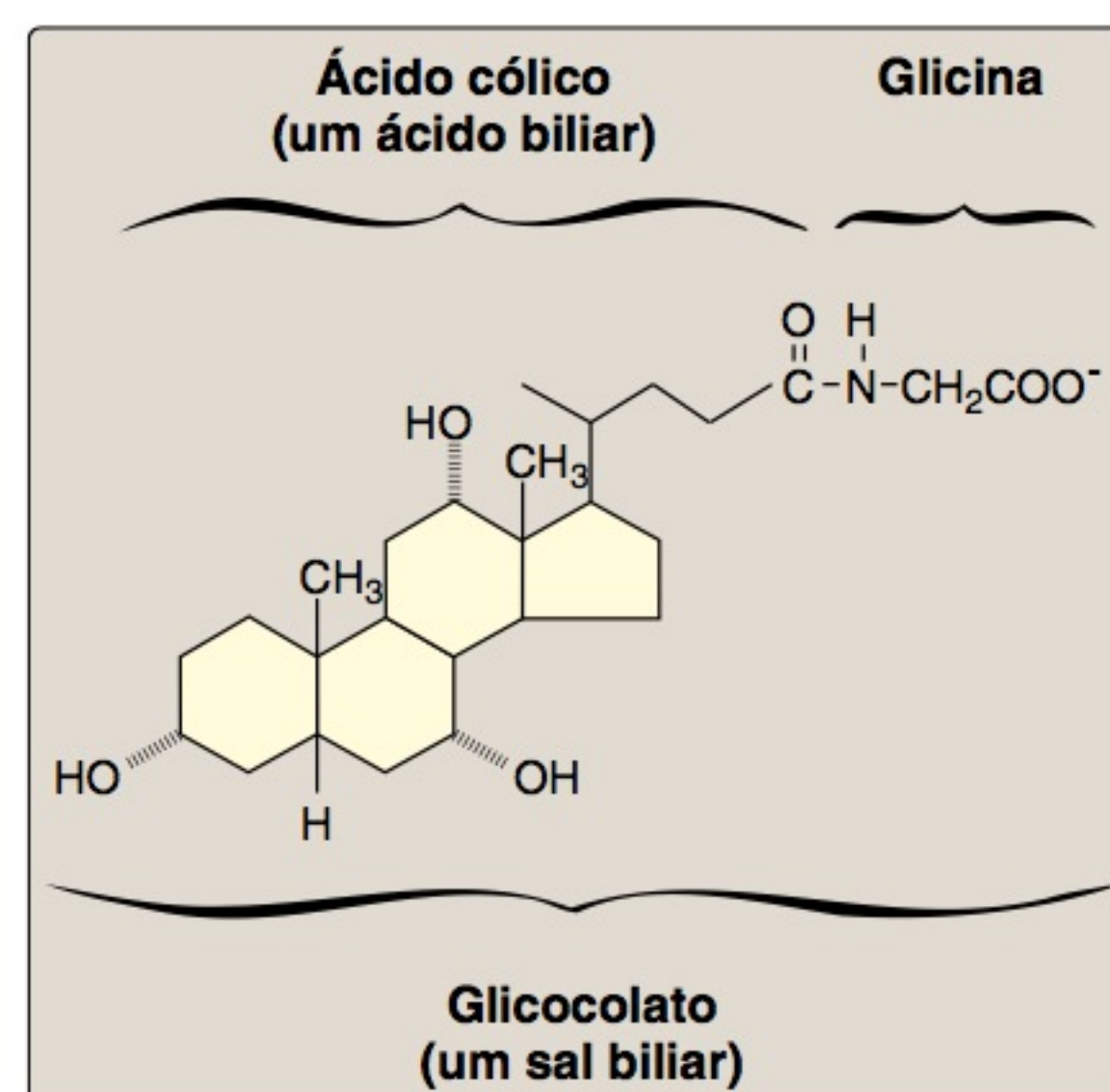
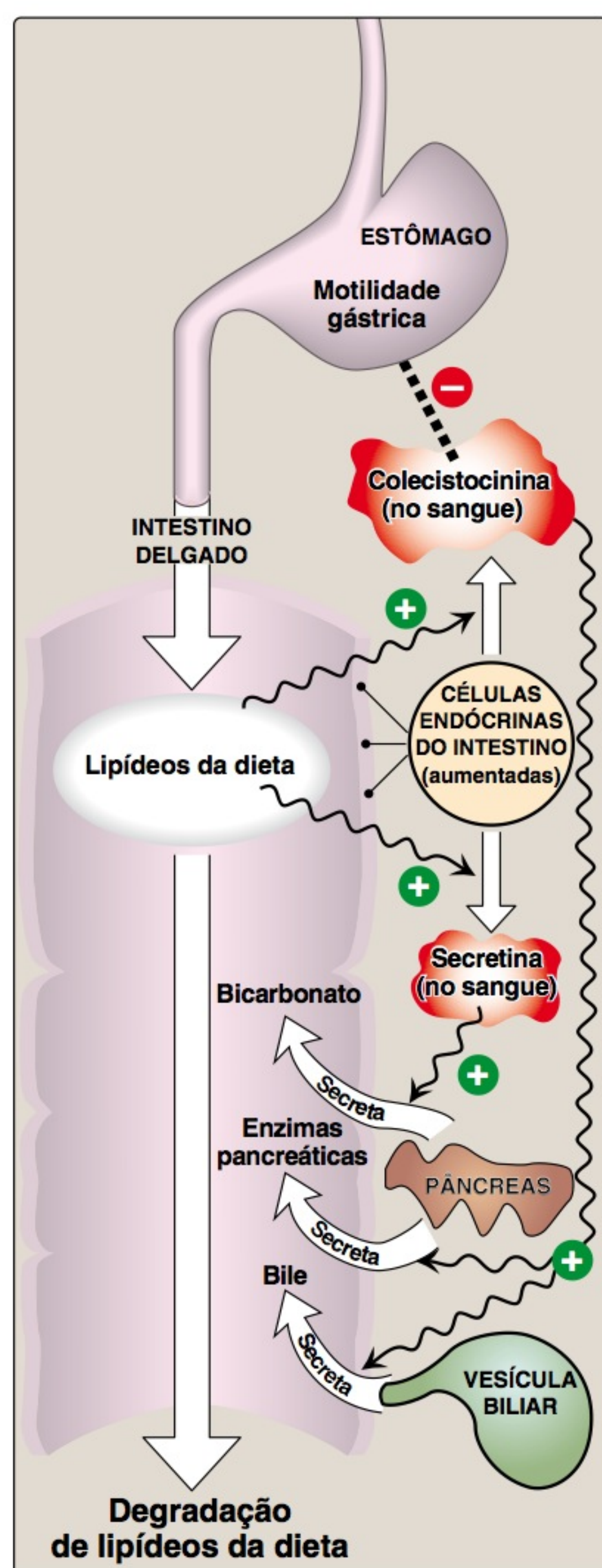


Figura 15.3

Estrutura do ácido glicocólico.



¹Veja o Capítulo 29 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca do Orlistat.

**Figura 15.4**

Controle hormonal da digestão dos lipídeos no intestino delgado.

graxo do carbono 2 de um fosfolípídeo, originando um lisofosfolípídeo. Por exemplo, a fosfatidilcolina (o fosfolípídeo predominante durante a digestão) torna-se lisofosfatidilcolina. O ácido graxo que resta no carbono 1 pode ser removido pela *lisofosfolipase*, originando a base glicerilfosforil (p. ex., glicerilfosforilcolina, veja a Figura 15.2) que pode ser posteriormente degradada, absorvida ou excretada nas fezes.

4. **Controle da digestão dos lipídeos.** A secreção pancreática das enzimas hidrolíticas que degradam os lipídeos da dieta no intestino delgado é controlada hormonalmente (Figura 15.4). As células na mucosa do duodeno inferior e do jejuno produzem um pequeno hormônio peptídico, a colecistocinina (CCK), em resposta à presença de lipídeos e de proteínas parcialmente digeridas que entram nessas regiões do intestino delgado superior. A CCK age sobre a vesícula biliar (fazendo-a contrair-se e liberar a bile – uma mistura de sais biliares, fosfolípídeos e colesterol livre) e sobre as células exócrinas do pâncreas (fazendo-as liberar enzimas digestivas). Ela diminui também a motilidade gástrica, resultando na liberação mais lenta dos conteúdos gástricos no intestino delgado (veja a p. 353). Outras células intestinais produzem outro pequeno hormônio peptídico, a secretina, em resposta ao baixo pH do quimo ao entrar no intestino. A secretina induz o pâncreas e o fígado a liberarem uma solução aquosa rica em bicarbonato, que ajuda a neutralizar o pH do conteúdo intestinal, trazendo-o para o pH apropriado para a atividade digestiva das enzimas pancreáticas.

D. Absorção de lipídeos pelas células da mucosa intestinal (enterócitos)

Ácidos graxos livres, colesterol livre e 2-monoacilglicerol são os principais produtos da digestão dos lipídeos no jejuno. Estes, juntamente com os sais biliares e as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), formam as micelas mistas – agregados em forma de disco de lipídeos anfipáticos, que coalescem com os seus grupos hidrofóbicos para o interior e seus grupos hidrofílicos para a superfície. As micelas mistas são, portanto, solúveis no meio aquoso do lúmen intestinal (Figura 15.5). Estas partículas se aproximam do principal local de absorção de lipídeos, a membrana com borda em escova dos enterócitos (células da mucosa). Esta membrana é separada dos conteúdos líquidos do lúmen intestinal por uma camada aquosa estacionária que se mistura pouco com o fluido total. A superfície hidrofílica das micelas facilita o transporte dos lipídeos hidrofóbicos através da camada de água estacionária para a membrana com borda em escova, onde eles são absorvidos. Os sais biliares são absorvidos no íleo. [Nota: em relação a outros lipídeos da dieta, o colesterol é muito pouco absorvido pelos enterócitos. A terapia farmacológica (p. ex., com ezetimiba²) pode reduzir ainda mais a absorção de colesterol no intestino delgado.] Ácidos graxos com cadeias curta e média não necessitam da participação de micelas mistas para sua absorção pela mucosa intestinal.

E. Ressíntese de TAG e ésteres de colesterol

A mistura de lipídeos absorvida pelos enterócitos migra para o retículo endoplasmático, onde ocorre a biossíntese de lipídeos complexos. Os ácidos graxos são primeiro convertidos em sua forma ativada pela *sinetase dos acil-CoA graxos (tiocinase)* (Figura 15.6). Usando derivados acil-CoA graxos, os 2-monoacilgliceróis absorvidos pelos enterócitos são converti-



²Veja o Capítulo 21 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca da ezetimiba (nomes comerciais, Ezetrol, Zetia, Ezemibe).

dos em TAGs pelo complexo enzimático *sintase dos TAG*. Esse complexo sintetiza TAG pela ação consecutiva de duas atividades enzimáticas – *acil-CoA:monoacilglicerol-aciltransferase* e *acil-CoA:diacilglicerol-aciltransferase*. Os lisofosfolídeos são reciclados para formar fosfolídeos por uma família de *aciltransferases*, e o colesterol é esterificado com um ácido graxo, principalmente pela *acil-CoA:colesterol-aciltransferase* (veja a p. 232). (Nota: praticamente todos os ácidos graxos de cadeia longa que entram nos enterócitos são usados dessa maneira para formar TAGs, fosfolídeos e ésteres de colesterol. Os ácidos graxos de cadeia curta e média não são convertidos em seus derivados CoA e não são reesterificados ao 2-monoacilglicerol. Em vez disso, eles são liberados para a circulação porta, sendo carregados pela albumina sérica para o fígado.)

F. Má absorção de lipídeos

A má absorção de lipídeos, resultando em aumento de lipídeos (incluindo as vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais, veja a p. 182) nas fezes (i. e., esteatorreia), pode ser causada por distúrbios na digestão e/ou na absorção de lipídeos (Figura 15.7). Tais distúrbios podem resultar de diversas condições, incluindo FC (causando digestão precária) e intestino encurtado (causando diminuição na absorção).



A possibilidade de captação dos ácidos graxos de cadeia curta e média pelos enterócitos sem a ajuda das micelas mistas tornou-os importantes na terapia dietética para indivíduos com distúrbios de má absorção.

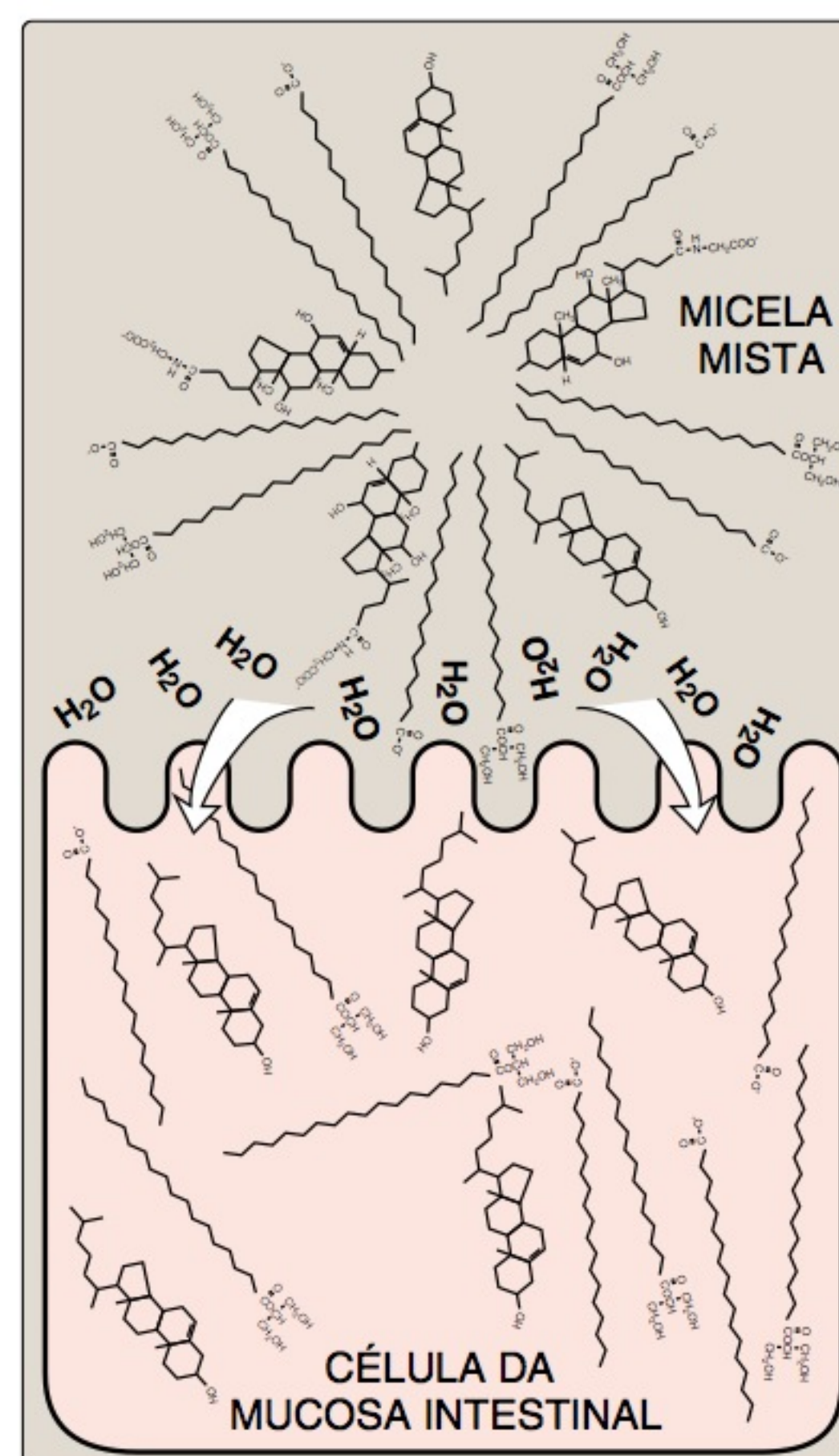


Figura 15.5

Absorção dos lipídeos contidos em uma micela mista por uma célula da mucosa intestinal. (Nota: a micela em si não é captada.)

G. Secreção de lipídeos a partir dos enterócitos

Os TAGs e os ésteres de colesterol novamente sintetizados são muito hidrofóbicos, e agregam-se em meio aquoso. Portanto, é necessário que eles sejam embalados como partículas, na forma de pequenas gotas de gordura circundadas por uma fina camada, composta de fosfolídeos, colesterol não esterificado e uma molécula da proteína característica apolipoproteína B-48 (veja a p. 228). Essa camada estabiliza a partícula e aumenta a sua solubilidade, evitando, assim, que muitas partículas coalesçam. (Nota: a proteína microsomal transferidora de

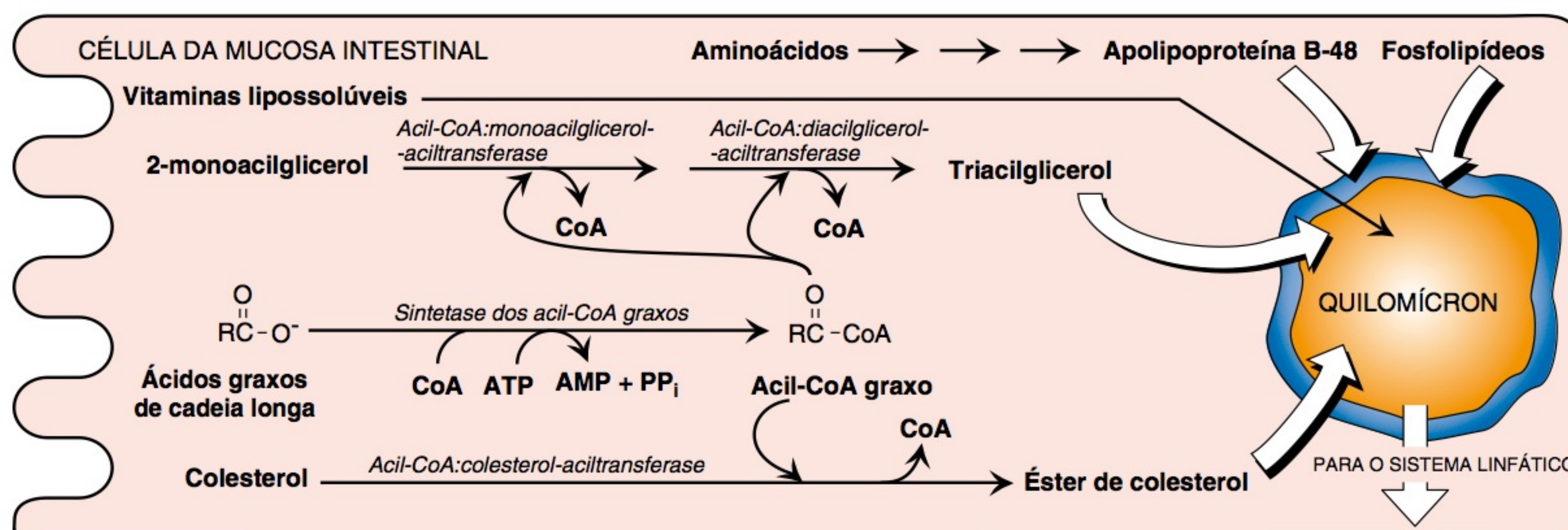


Figura 15.6

Associação e secreção de quilomícra por células da mucosa intestinal. (Nota: ácidos graxos de cadeia curta ou média não necessitam incorporação em micelas e entram diretamente no sangue.)

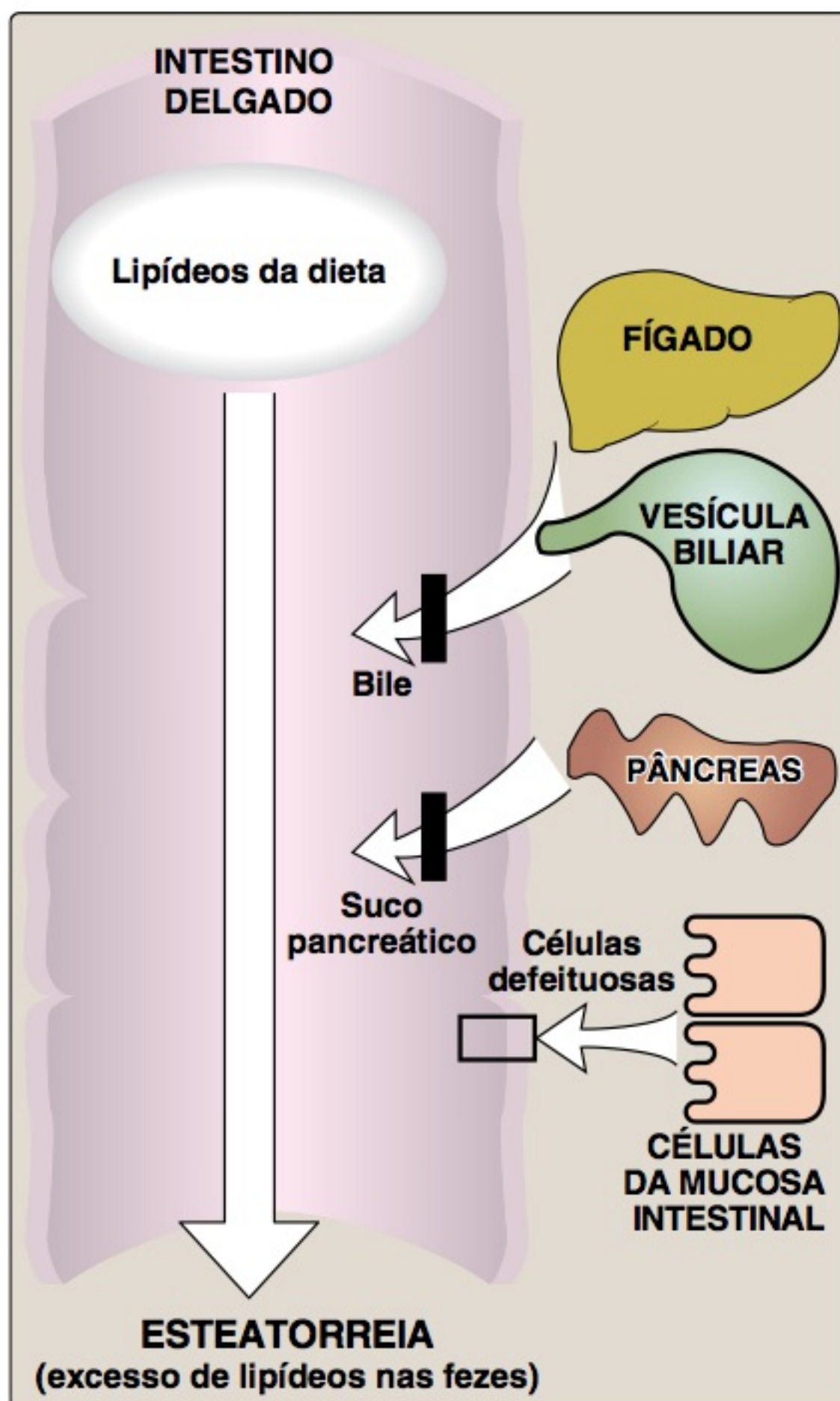


Figura 15.7

Possíveis causas de esteatorreia.

TAG é essencial para a formação dessas partículas lipoproteicas ricas em TAG contendo apolipoproteína B no retículo endoplasmático.) As partículas são liberadas por exocitose dos enterócitos para os lactéios (vasos linfáticos que se originam nas vilosidades do intestino delgado). A presença dessas partículas na linfa após uma refeição rica em lipídeos dá à linfa uma aparência leitosa. Essa linfa é chamada quilo (em oposição ao quimo – o nome dado para a massa semifluida de alimento parcialmente digerido que passa do estômago para o duodeno), e as partículas são chamadas quilomicra. Os quilomicra seguem pelo sistema linfático até o ducto torácico e são, em seguida, transportados para a veia subclávia esquerda, onde entram no sangue. As etapas para a produção de quilomicra estão resumidas na Figura 15.6. (Para uma descrição mais detalhada da estrutura e do metabolismo do quilomícron, veja a p. 228.)

H. Utilização dos lipídeos da dieta pelos tecidos

Os triacilgliceróis presentes nos quilomicra são hidrolisados principalmente nos capilares do músculo esquelético e do tecido adiposo, mas também nos capilares do coração, dos pulmões, dos rins e do fígado. O triacilglicerol presente nos quilomicra é degradado a ácidos graxos livres e glicerol pela *lipase lipoproteica*. Essa enzima é sintetizada principalmente pelos adipócitos e pelas células musculares. Ela é secretada e se torna associada à superfície luminal das células endoteliais dos leitos capilares dos tecidos periféricos. (Nota: a deficiência familiar da *lipase lipoproteica* [hiperlipoproteinemia do tipo I] é uma rara doença autossômica recessiva causada por uma deficiência da *lipase lipoproteica* ou de sua coenzima, a apolipoproteína C-II [veja a p. 228]. O resultado é quilomiconemia e hipertriacilglicerolemia de jejum.)

1. **Destino dos ácidos graxos livres.** Os ácidos graxos livres derivados da hidrólise dos TAGs podem entrar diretamente tanto nas células musculares adjacentes como nos adipócitos, ou podem ser transportados no sangue em associação com a albumina sérica até serem captados pelas células. (Nota: a albumina sérica é uma proteína grande secretada pelo fígado. Ela transporta diversos compostos, basicamente hidrofóbicos, no sistema circulatório, incluindo ácidos graxos livres e alguns fármacos.) Muitas células podem oxidar ácidos graxos para produzir energia (veja a p. 190). Os adipócitos podem também reesterificar ácidos graxos livres para produzir moléculas de TAG, as quais são armazenadas até os ácidos graxos serem necessários para o corpo (veja a p. 188).
2. **Destino do glicerol.** O glicerol liberado a partir dos TAGs é utilizado quase exclusivamente pelo fígado para produzir glicerol-3-fosfato, que pode entrar tanto na glicólise como na gliconeogênese, por oxidação a di-hidroxiacetona-fosfato (veja a p. 190).
3. **Destinos dos demais componentes dos quilomicra.** Após a remoção da maior parte dos TAGs, os quilomicra remanescentes (que contêm ésteres de colesterol, fosfolipídeos, apolipoproteínas, vitaminas lipossolúveis e alguns TAG) ligam-se a receptores no fígado (veja a p. 230) e sofrem, então, endocitose. A seguir, os remanescentes são hidrolisados em seus constituintes. O colesterol e as bases nitrogenadas dos fosfolipídeos (p. ex., a colina) podem ser reciclados pelo corpo. (Nota: se a remoção dos remanescentes pelo fígado estiver diminuída por uma deficiência na ligação ao seu receptor, eles se acumulam no plasma. Isso é observado na hiperlipoproteinemia do tipo III [uma condição rara, também chamada disbetalipoproteinemia familiar, veja a p. 231].)

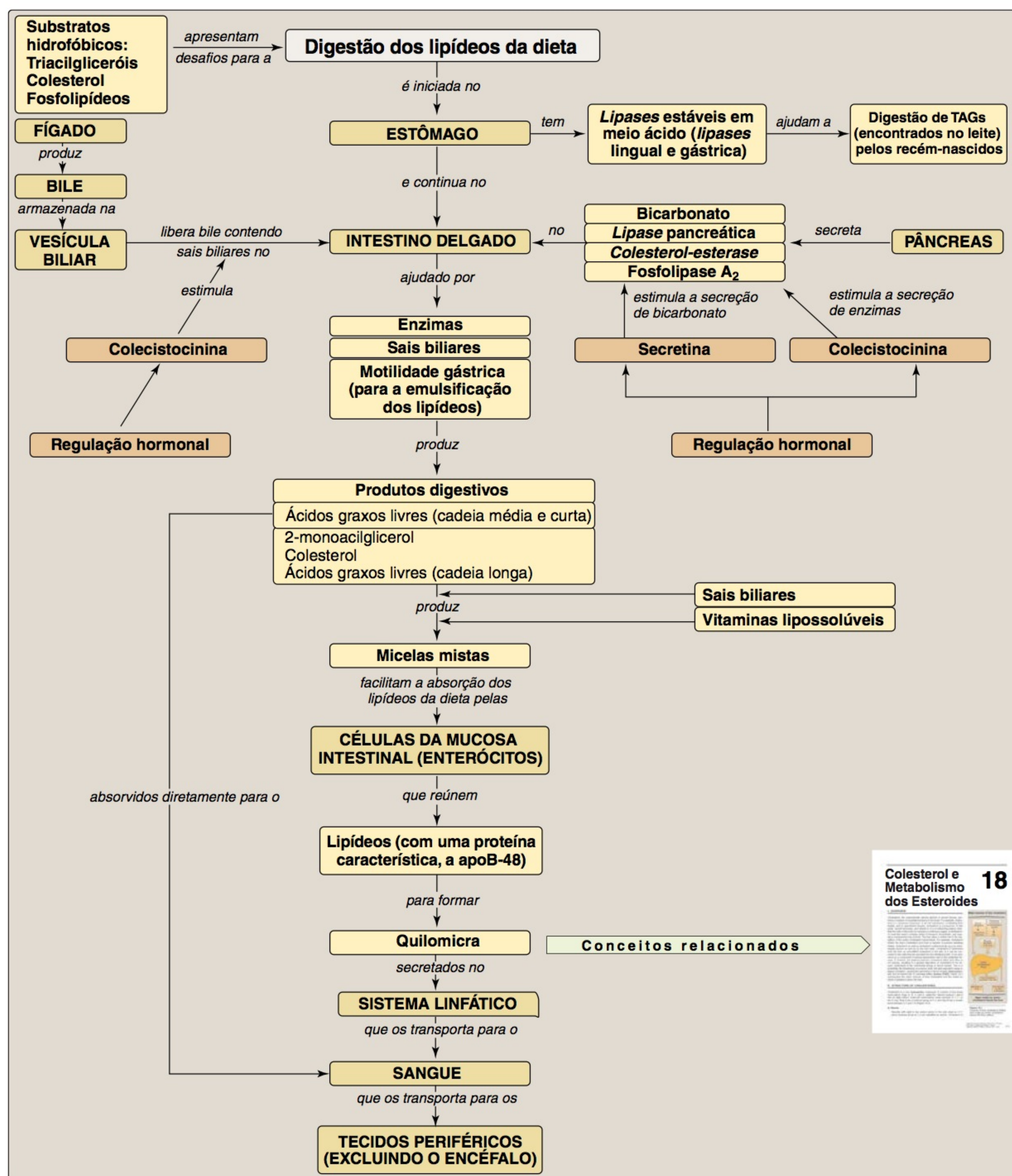


Figura 15.8

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo dos lipídeos da dieta. apo = apolipoproteína; TAGs = triacilgliceróis.

III. RESUMO DO CAPÍTULO

A digestão dos **lipídeos da dieta** começa no **estômago** e continua no **intestino delgado** (Figura 15.8). A **natureza hidrofóbica** dos lipídeos exige que os lipídeos da dieta – especialmente os que contêm ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) – sejam **emulsificados** para uma degradação eficiente. Os triacilgliceróis (TAGs) obtidos do leite contêm **ácidos graxos de cadeia curta ou média** e podem ser degradados no estômago pelas lipases ácidas (**lipases lingual e gástrica**). Ésteres de colesterol (ECs), fosfolipídeos (FLs) e TAGs contendo AGCLs são degradados no **intestino delgado** por enzimas secretadas pelo **pâncreas**. As mais importantes dessas enzimas são a **lipase pancreática**, a **fosfolipase A₂** e a **colesterol esterase**. Os lipídeos da dieta são **emulsificados** no intestino delgado usando a **ação peristáltica** e os **sais biliares**, que servem como detergente. Os principais produtos resultantes da degradação enzimática dos lipídeos da dieta são **2-monoacilglicerol**, **colesterol** não esterificado e **ácidos graxos livres**. Esses compostos, mais as vitaminas lipossolúveis, formam as **micelas mistas**, que facilitam a absorção dos lipídeos da dieta pelas **células mucosas intestinais (enterócitos)**. Essas células sintetizam novamente os TAGs, ECs e FLs e sintetizam também proteínas (**apolipoproteína B-48**); todos esses compostos são associados então com as vitaminas lipossolúveis, formando os **quilomicra**. Essas partículas de **lipoproteínas séricas** são liberadas para a **linfa**, que as carrega para o **sangue**. Desse modo, os lipídeos da dieta são transportados para os tecidos periféricos. Ácidos graxos de cadeia curta e média entram diretamente no sangue. Problemas na absorção de lipídeos causam esteatorreia. A deficiência na capacidade de degradar os componentes dos quilomicra ou de remover os seus remanescentes após a remoção dos TAGs resulta no acúmulo dessas partículas no sangue.

Questões para estudo

15.1 Qual das seguintes afirmativas acerca da digestão de lipídeos está correta?

- A. A digestão dos lipídeos começa com lipases estáveis em meio ácido, que utilizam como substrato principalmente TAGs contendo ácidos graxos com cadeias longas a muito longas.
- B. Grandes gotas de lipídeos são emulsificadas (têm a área de sua superfície aumentada) na boca, pela mastigação.
- C. A colipase facilita a ligação dos sais biliares às micelas mistas, maximizando a atividade da lipase pancreática.
- D. O hormônio peptídico secretina determina a contração da vesícula biliar, com liberação da bile.
- E. Pacientes com fibrose cística têm dificuldades com a digestão, pois o espessamento das secreções pancreáticas dificulta a chegada dessas secreções ao intestino delgado, principal sítio da digestão dos lipídeos.
- F. A formação dos quilomicra é independente da síntese proteica pela mucosa intestinal.

Resposta correta: E. Pacientes com FC, uma doença genética devida a uma deficiência de proteína RTFC funcional, apresentam secreções espessadas, o que prejudica o fluxo das enzimas pancreáticas para o duodeno. As lipases estáveis em meio ácido, lipase lingual e lipase gástrica, usam como substratos TAGs com ácidos graxos de cadeia curta a média, abundantes no leite. A emulsificação ocorre por meio do peristaltismo, que fornece os movimentos mecânicos que permitem a formação da mistura, e dos sais biliares, que funcionam como detergentes. A colipase restaura a atividade da lipase pancreática na presença de ácidos biliares inibitórios, que se ligam às micelas. A CCK (colecistocinina) é o hormônio que causa contração da vesícula biliar e liberação da bile armazenada; a secretina determina a liberação de bicarbonato. A formação do quilomícron requer a síntese da proteína apolipoproteína B-48.

15.2 Qual das seguintes afirmativas acerca da absorção de lipídeos pelo intestino está correta?

- A. O triacilglicerol da dieta deve ser completamente hidrolisado a ácidos graxos livres e glicerol antes da absorção.
- B. Os TAGs transportados pelos quilomicra são degradados a ácidos graxos livres e glicerol pela lipase lipoproteica na superfície do endotélio dos capilares, principalmente no músculo e no tecido adiposo.
- C. Ácidos graxos que contêm dez ou menos carbonos são absorvidos e entram na circulação principalmente pelo sistema linfático.
- D. Deficiências na capacidade de absorver gordura resultam em quantidades excessivas de quilomicra no sangue.

Resposta correta = B. Os TAGs nos quilomicra são degradados a ácidos graxos e glicerol pela lipase lipoproteica na superfície do endotélio dos capilares no músculo e tecido adiposo, fornecendo assim uma fonte de ácidos graxos a esses tecidos, para degradação ou armazenamento. No duodeno, os TAGs são degradados, produzindo 1 monoacilglicerol + 2 ácidos graxos livres, que são absorvidos. Ácidos graxos de cadeia curta e média entram diretamente no sangue; não são empacotados nos quilomicra. Os quilomicra contêm lipídeos da dieta que foram digeridos e absorvidos, de modo que um defeito na absorção de gordura resultaria em diminuição na produção de quilomicra.

Metabolismo dos Ácidos Graxos e dos Triacilgliceróis

I. VISÃO GERAL

Os ácidos graxos existem no organismo na forma livre (i. e., não esterificados) e também são encontrados como ésteres de acila em moléculas mais complexas, como os triacilgliceróis. Em todos os tecidos, existem níveis baixos de ácidos graxos livres, entretanto, algumas vezes, pode-se encontrar quantidades substanciais no plasma, em especial durante o jejum. Os ácidos graxos livres no plasma (transportados pela albumina sérica) circulam desde sua origem (triacilgliceróis do tecido adiposo ou das lipoproteínas da circulação) até o sítio de consumo (a maioria dos tecidos). Os ácidos graxos livres podem ser oxidados por muitos tecidos – especialmente pelo fígado e pelo músculo – para fornecer energia. Os ácidos graxos são também componentes estruturais dos lipídeos de membrana, como fosfolipídeos e glicolipídeos (veja a p. 201). Os ácidos graxos se ligam a certas proteínas intracelulares, aumentando a capacidade dessas proteínas de se associar às membranas (veja a p. 206), além de serem precursores de prostaglandinas (veja a p. 213). Os ácidos graxos esterificados, na forma de triacilgliceróis armazenados nas células adiposas, atuam como a maior reserva energética do organismo. A Figura 16.1 ilustra as rotas metabólicas de síntese e degradação dos ácidos graxos e a sua relação com o metabolismo dos carboidratos.

II. ESTRUTURA DOS ÁCIDOS GRAXOS

Um ácido graxo consiste em uma cadeia hidrocarbonada hidrofóbica com um grupo carboxila terminal cujo pK_a é ao redor de 4,8 (Figura 16.2). No pH fisiológico, o grupo carboxila terminal ($-\text{COOH}$) ioniza, tornando-se $-\text{COO}^-$. Esse grupo aniônico tem afinidade por água, conferindo ao ácido graxo natureza anfipática (apresenta uma região hidrofóbica e outra hidrofílica). Entretanto, para os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), a porção hidrofóbica é predominante. Essas moléculas são altamente insolúveis em água e precisam ser transportadas na circulação associadas às proteínas. Mais de 90% dos ácidos graxos encontrados no plasma estão na forma de ésteres de ácidos graxos (basicamente triacilgliceróis, ésteres de colesterol e fosfolipídeos),

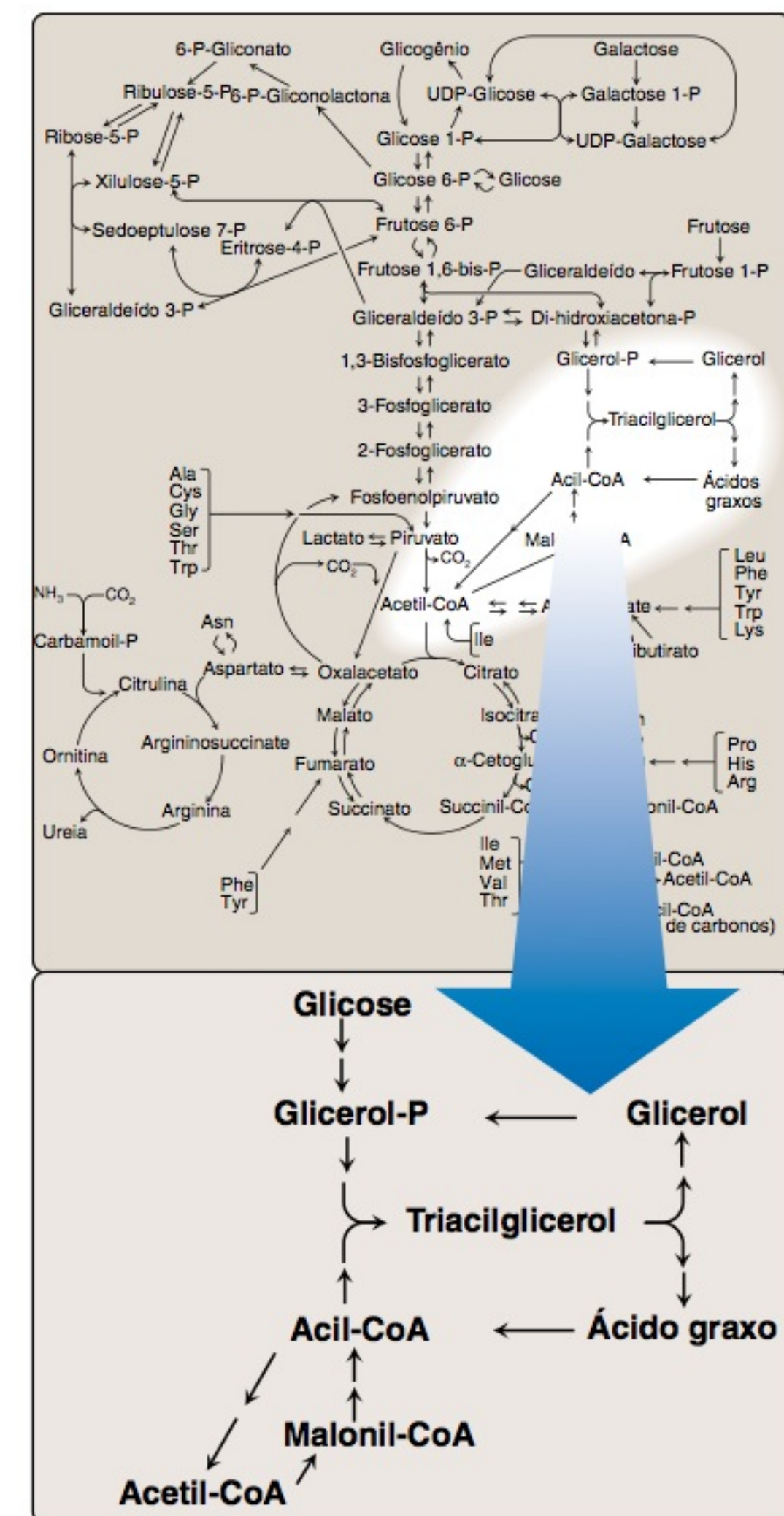


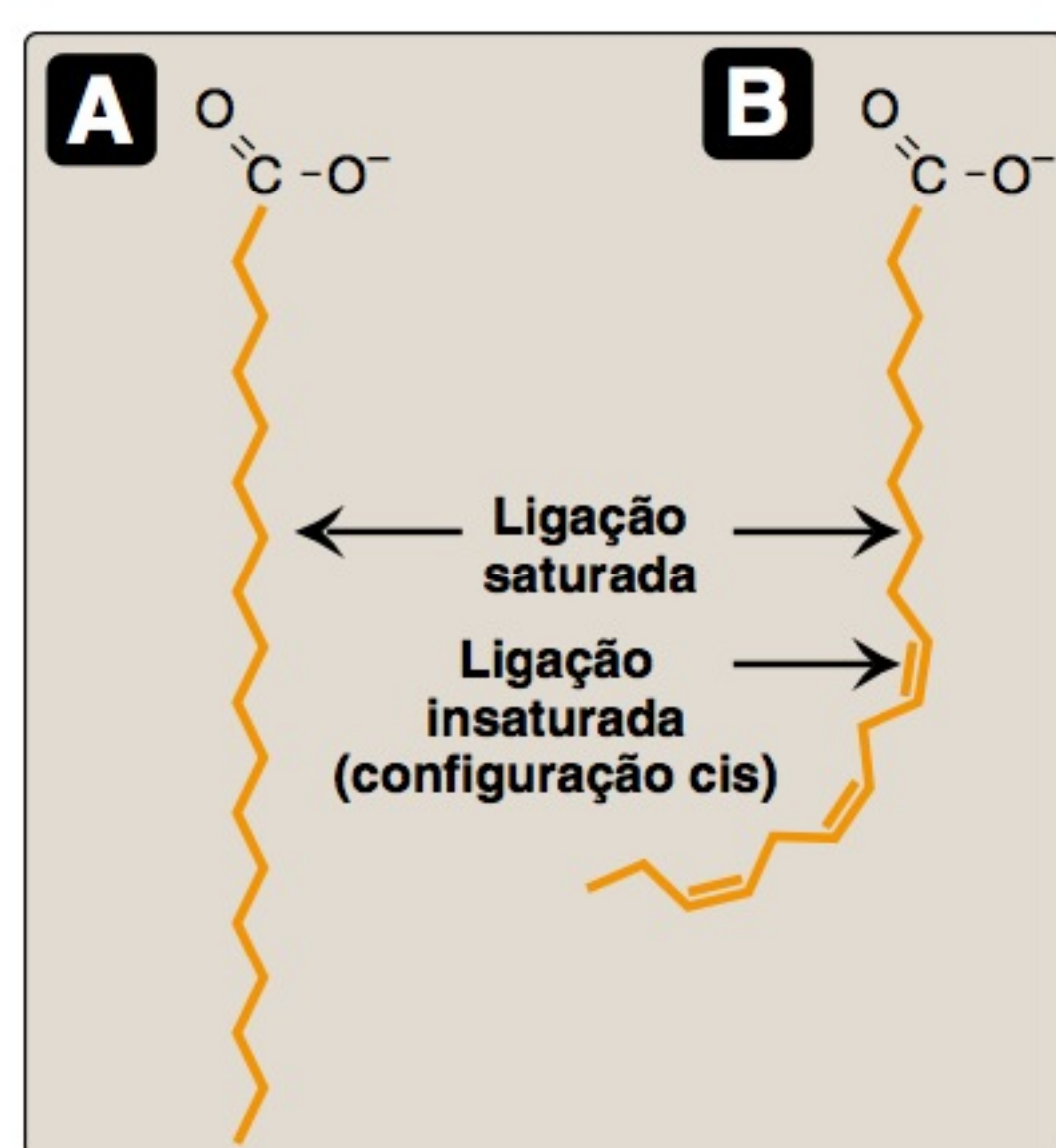
Figura 16.1

Síntese e degradação de triacilgliceróis.

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n$	COO^-
Cadeia hidrocarbonada hidrofóbica	Grupo carboxílico hidrofílico (ionizado em pH 7)

Figura 16.2

Estrutura de um ácido graxo.

**Figura 16.3**

Um ácido graxo saturado (A) e um ácido graxo insaturado (B). A cor laranja denota porções hidrofóbicas das moléculas. (Nota: as ligações duplas cis determinam uma “torção” na cadeia do ácido graxo.)

contidos nas partículas de lipoproteínas da circulação (veja a p. 227). Ácidos graxos não esterificados (livres) são transportados na circulação associados com a albumina.

A. Saturação dos ácidos graxos

A cadeia dos ácidos graxos pode não apresentar ligações duplas – isto é, ser saturada – ou apresentar uma ou mais ligações duplas – isto é, ser mono ou poli-insaturada. Quando as ligações duplas estão presentes, encontram-se quase sempre na configuração cis e raramente na configuração trans. (Veja, na p. 363, uma discussão sobre a ocorrência de ácidos graxos insaturados cis e trans na dieta.) A introdução de uma ligação dupla com configuração cis causa uma curvatura ou “torção” no ácido graxo naquela posição (Figura 16.3). Se o ácido graxo tem duas ou mais ligações duplas, elas são sempre espaçadas em intervalos de três carbonos. (Nota: em geral, a adição de ligações duplas diminui a temperatura de fusão [T_f] do ácido graxo; por sua vez, o aumento do comprimento da cadeia aumenta a T_f . Uma vez que os lipídeos da membrana contêm tipicamente AGCL, a presença de ligações duplas em alguns ácidos graxos ajuda a manter a natureza fluida daqueles lipídeos.)

B. Comprimento da cadeia dos ácidos graxos

Os nomes comuns e as estruturas de alguns ácidos graxos de importância fisiológica estão listados na Figura 16.4. Os átomos de carbono são numerados, começando com o carbono da carboxila como carbono 1. O número antes dos dois pontos indica o número de carbonos na cadeia e os números após os dois pontos indicam o número de ligações duplas e suas posições (em relação à carboxila terminal). Por exemplo, como mostra a Figura 16.5A, o ácido araquidônico, 20:4(5,8,11,14), tem 20 carbonos e quatro ligações duplas (entre os carbonos 5-6, 8-9, 11-12 e 14-15). (Nota: o carbono 2 – o carbono unido ao grupo carboxila – é também chamado de carbono α , o carbono 3 é o carbono β e o carbono 4 é o carbono γ . O carbono do grupo metila terminal é chamado de carbono ω , independentemente do comprimento da cadeia.) As ligações duplas em um ácido graxo também podem ser contados a partir do carbono ω (ou metila terminal). O ácido araquidônico é referido como um ácido graxo ω -6 (também chamado de n-6, Figura 16.5A), pois a última ligação dupla está a seis ligações a partir do carbono ω terminal (Figura 16.5B). Outro ácido graxo ω -6 é o ácido graxo essencial ácido linoleico, 18:2(9,12). Por sua vez, o ácido α -linolênico, 18:3(9,12,15), é um ácido graxo essencial ω -3. (Veja a p. 363 para uma discussão acerca do significado nutricional dos ácidos graxos ω -3 e ω -6.)

C. Ácidos graxos essenciais

Dois ácidos graxos são essenciais na dieta dos humanos, visto nossa incapacidade de sintetizá-los: o ácido linoleico, precursor do ácido araquidônico ω -6, o substrato para a síntese das prostaglandinas (veja a p. 213), e o ácido α -linolênico, precursor de outros ácidos graxos ω -3 importantes para o crescimento e o desenvolvimento. As plantas nos fornecem os ácidos graxos essenciais. (Nota: o ácido araquidônico torna-se essencial se houver deficiência de ácido linoleico na dieta).

Ácidos graxos com cadeias entre 4 e 10 átomos de carbono são encontrados em quantidades significativas no leite.

Lipídeos estruturais e triacilgliceróis contêm principalmente ácidos graxos de pelo menos 16 carbonos.

NOME COMUM	ESTRUTURA
Ácido fórmico	1
Ácido acético	2:0
Ácido propiônico	3:0
Ácido butírico	4:0
Ácido caprílico	10:0
Ácido palmítico	16:0
Ácido palmitoleico	16:1(9)
Ácido esteárico	18:0
Ácido oleico	18:1(9)
Ácido linoleico	18:2(9,12)
Ácido α -linolênico	18:3(9,12,15)
Ácido araquidônico	20:4(5, 8, 11, 14)
Ácido lignocérico	24:0
Ácido nervônico	24:1(15)

Precursor de prostaglandinas

Ácidos graxos essenciais

Figura 16.4

Alguns ácidos graxos de importância fisiológica.



A deficiência de ácidos graxos essenciais pode ocasionar dermatite escamosa, bem como anormalidades visuais e neurológicas. Entretanto, a deficiência de ácidos graxos essenciais é rara.

III. SÍNTESE DE NOVO DE ÁCIDOS GRAXOS

Grande parte dos ácidos graxos usados pelo organismo é suprida pela dieta. Carboidratos e proteínas obtidos da dieta em excesso, além das quantidades corporais necessárias desses compostos podem ser convertidos em ácidos graxos, que são armazenados como triacilgliceróis. (Veja a p. 321 para uma discussão sobre o metabolismo de nutrientes da dieta no estado alimentado.) Em humanos adultos, a síntese de ácidos graxos ocorre principalmente no fígado e nas glândulas mamárias em lactação e, em menor extensão, no tecido adiposo. Esse processo citosólico incorpora carbonos a partir da acetil-coenzima A (CoA) na cadeia de ácido graxo em crescimento, usando trifosfato de adenosina (ATP) e nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzido (NADPH).

A. Produção de acetil-CoA citosólica

A primeira etapa da síntese *de novo* de ácidos graxos é a transferência de unidades de acetato a partir da acetil-CoA mitocondrial para o citosol. A acetil-CoA mitocondrial é produzida pela oxidação do piruvato (veja a p. 109) e pelo catabolismo de ácidos graxos (veja a p. 190), corpos cetônicos (veja a p. 196) e de certos aminoácidos (veja a p. 266). A coenzima A, componente da acetil-CoA, entretanto, não pode atravessar a membrana mitocondrial interna; somente a porção acetila pode ser transportada para o citosol. Isso acontece na forma de citrato, que é produzido pela condensação do oxalacetato (OAA) e da acetil-CoA (Figura 16.6). (Nota: este processo de translocação do citrato da mitocôndria para o citosol, onde o citrato é clivado pela *ATP-citrato-liase* para produzir acetil-CoA citosólica e OAA, ocorre quando a concentração mitocondrial de citrato é alta. Isso se observa quando a *isocitrato-desidrogenase* é inibida por grande quantidade de ATP, causando acúmulo de citrato e isocitrato [veja a p. 112]. Assim sendo, o citrato citosólico pode ser reconhecido como sinal de alta energia.) Como é necessária uma grande quantidade de ATP para a síntese de ácidos graxos, o aumento de ATP e citrato intensifica essa rota.

B. Formação de malonil-CoA a partir da carboxilação de acetil-CoA

A energia para as condensações carbono-carbono na síntese de ácidos graxos é suprida pelo processo de carboxilação e descarboxilação dos grupos acetila no citosol. A carboxilação de acetil-CoA para formar malonil-CoA é catalisada pela *acetil-CoA-carboxilase* (Figura 16.7) e requer CO_2 e ATP. A coenzima é uma vitamina, a biotina, que é ligada covalentemente a um resíduo de lisina da *carboxilase* (veja a Figura 28.16).

1. Regulação a curto prazo da acetil-CoA-carboxilase (ACC).

Essa carboxilação é a etapa limitante e regulada na síntese de ácidos graxos (Figura 16.7). A forma inativa da *acetil-CoA-carboxilase* é um protômero (dímero). A enzima sofre ativação alostérica por citrato, o que provoca a polimerização dos dímeros e inativação alostérica por acil-CoA de cadeia longa (o produto final desta via), causando sua despolimerização. Um segundo mecanismo para a regulação a curto prazo é a fosforilação reversível. A *proteína cinase ativada por AMP (AMPK)* fosforila e inativa a *acetil-CoA-carboxilase*. A *AMPK*, por sua vez, é alostericamente ativada por AMP e covalentemente ativada por fosforilação via diversas *cinases*. Pelo menos uma dessas *AMPK-cinases* é ativada pela *proteína-cinase A dependente de AMPc (PKA)*. Logo, na

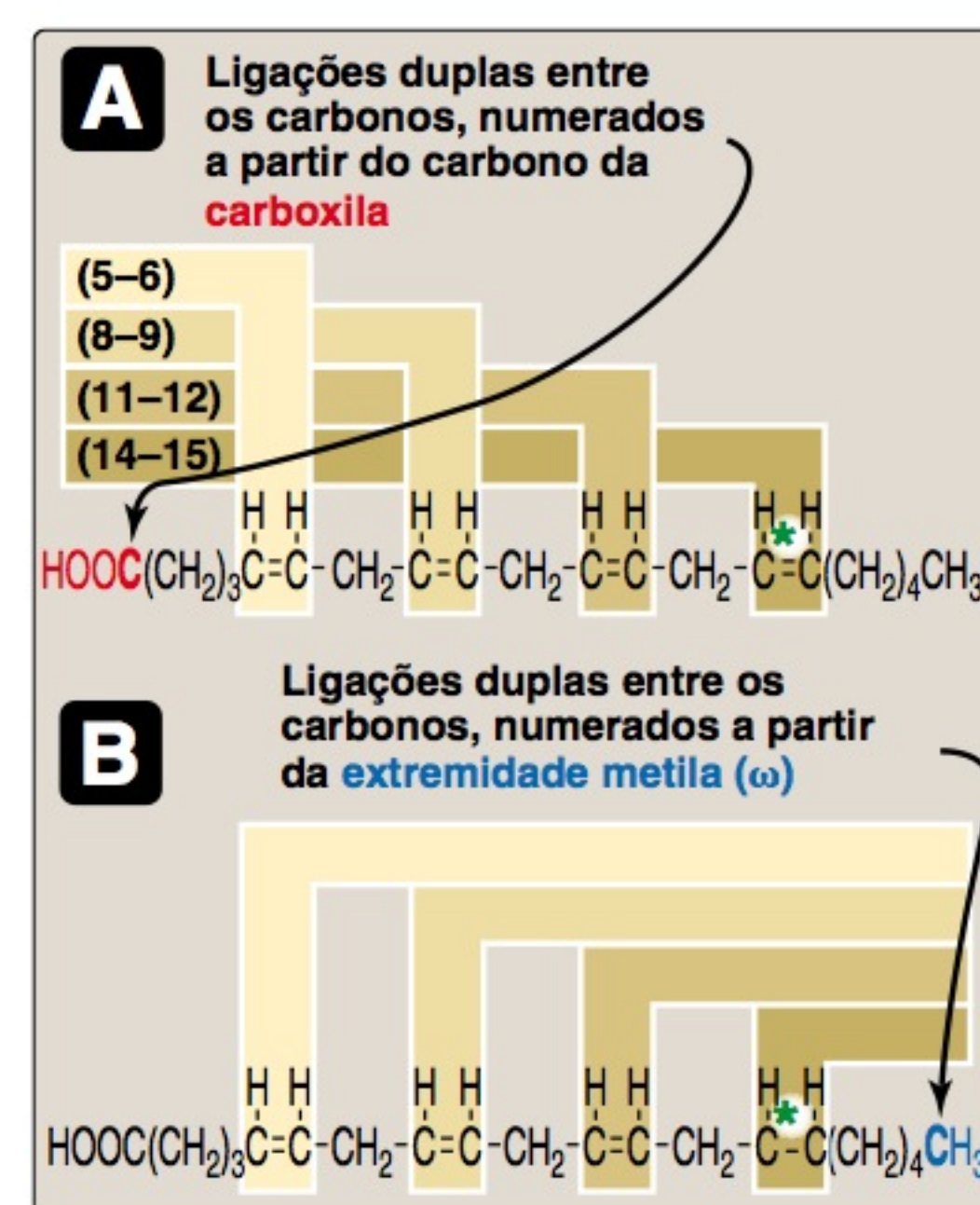


Figura 16.5

Ácido araquidônico, ilustrando as posições das ligações duplas. O ácido araquidônico, 20:4(5,8,11,14), é um ácido graxo n-6, pois a ligação dupla mais distante da carboxila (carbono 1) está no carbono 14 ($20-14 = 6$). Esse ácido graxo é também referido como ácido graxo ω -6, pois a última ligação dupla está distante 6 carbonos da extremidade ω (metila terminal). Assim sendo, as designações " ω " e "n" são equivalentes (veja *).

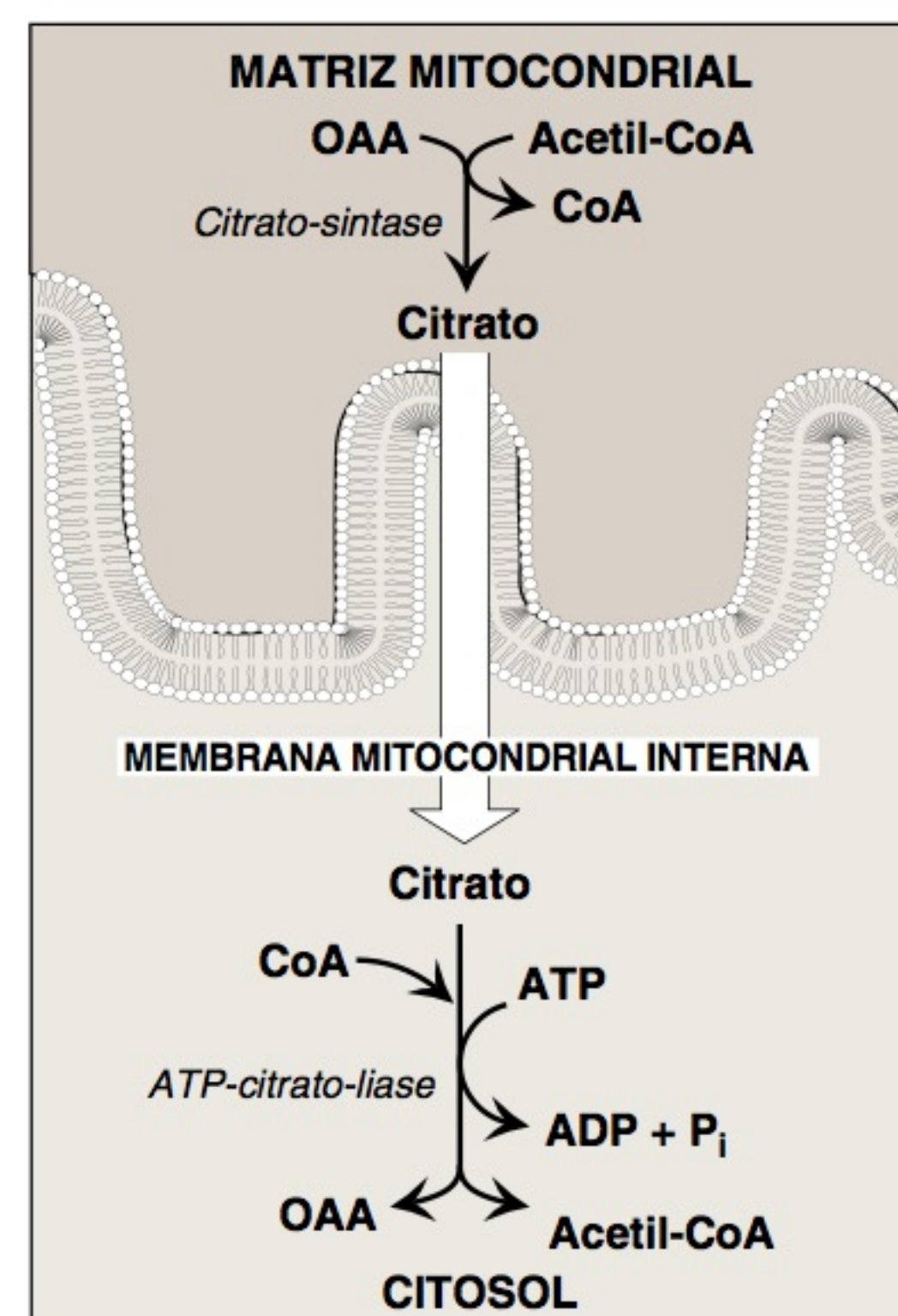
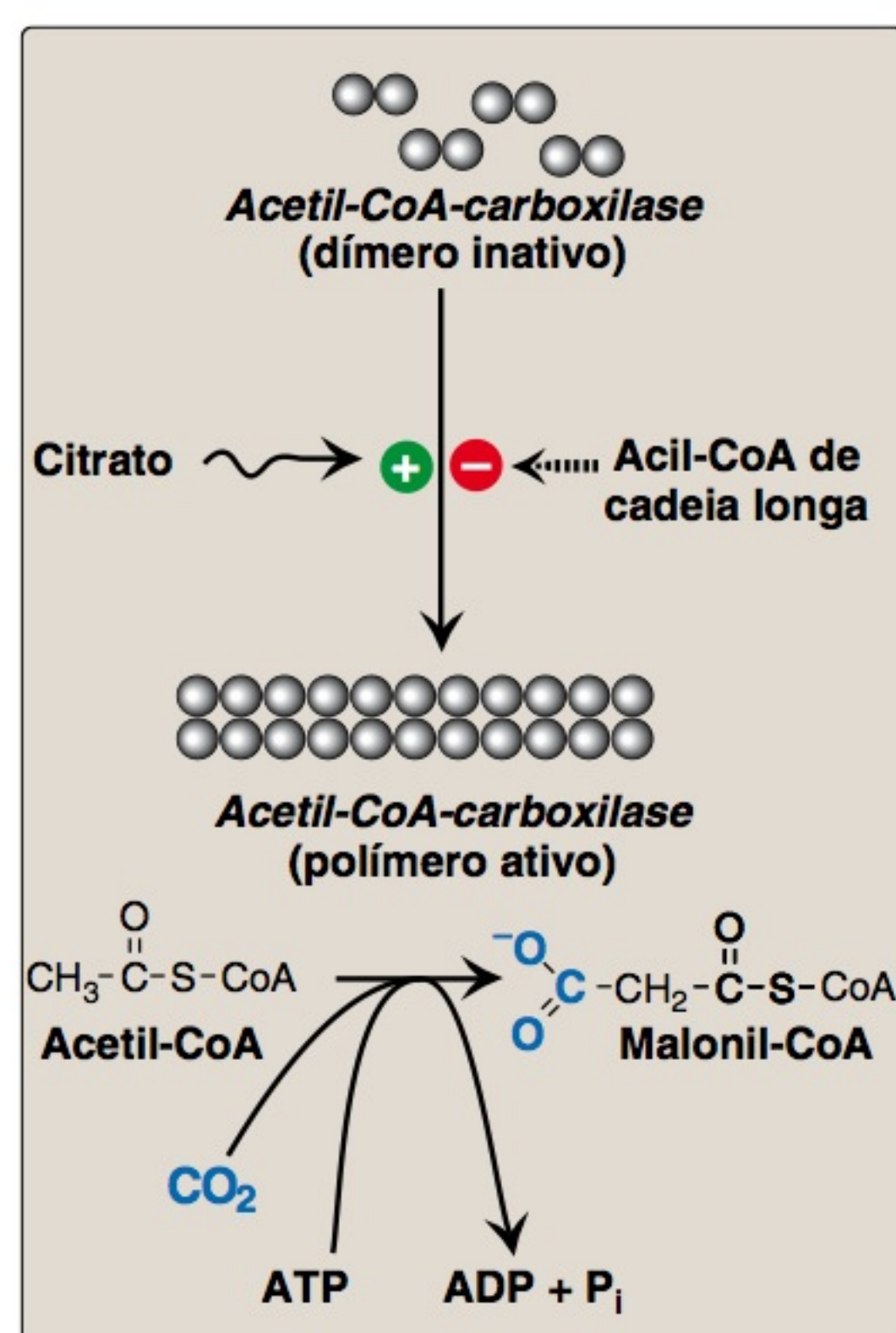


Figura 16.6

Produção de acetil-CoA citosólica.

**Figura 16.7**

Regulação alostérica da síntese de malonil-CoA pela *acetil-CoA-carboxilase*. O grupo carboxílico originário do CO_2 é mostrado em azul.

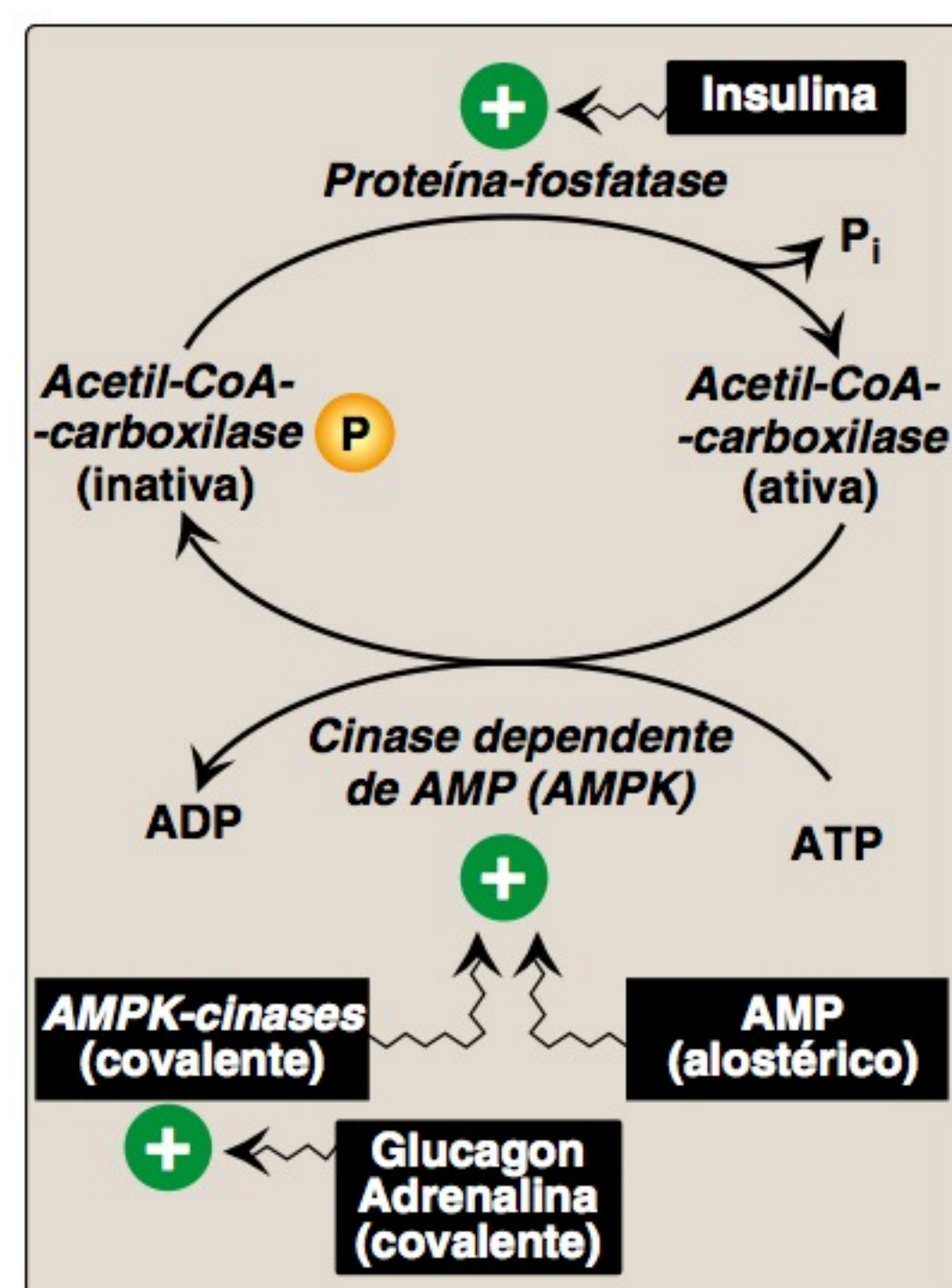
presença de hormônios contrarregulatórios, como adrenalina e glucagon, a *acetil-CoA-carboxilase* é fosforilada e, consequentemente, *inativada* (Figura 16.8). Na presença de insulina, a *acetil-CoA-carboxilase* é desfosforilada e, portanto, ativada. (Nota: esse mecanismo é semelhante ao da regulação da *glicogênio-sintase*, veja a p. 131.)

2. **Regulação de longa duração da acetil-CoA-carboxilase.** O consumo prolongado de dieta com excesso de calorias (especialmente dieta hipercalórica com alto conteúdo de carboidratos) provoca aumento na síntese da *acetil-CoA-carboxilase*, aumentando a síntese de ácidos graxos. Por outro lado, dietas com poucas calorias ou dietas com alto conteúdo de gordura provocam redução na síntese de ácido graxo por diminuir a síntese da *acetil-CoA-carboxilase*. (Nota: a síntese da *carboxilase* é estimulada por insulina via proteína de ligação ao elemento responsivo ao esteroide, PLERE-1. A função e a regulação das PLERE são descritas na p. 222. A *ácido graxo-sintase* [veja a seguir] é igualmente regulada pela dieta e pela PLERE-1). A metformina, utilizada no tratamento do diabetes do tipo 2, diminui os triglicerídeos no soro por meio da ativação da *AMPK*, resultando na inibição da atividade da *acetil-CoA-carboxilase* (por fosforilação) e inibição da expressão da *acetil-CoA-carboxilase* e *ácido graxo-sintase* (pela diminuição da PLERE-1). A metformina também diminui a glicose sanguínea por aumentar a captação de glicose mediada por *AMPK* no músculo.

C. Ácido graxo-sintase: uma enzima multifuncional em eucariotos

As demais reações da síntese de ácidos graxos em eucariotos são catalisadas por uma enzima dimérica multifuncional, a *ácido graxo-sintase* (AGS). Cada monômero da *ácido graxo-sintase* é um polipeptídeo multicatalítico com sete diferentes atividades enzimáticas, mais um domínio que se liga covalentemente a uma molécula de 4'-fosfopanteteína. (Nota: a 4'-fosfopanteteína, um derivado da vitamina ácido pantotênico [veja a p. 381], carrega unidades acilas em seu grupo terminal tiol [-SH] durante a síntese dos ácidos graxos. É também componente da coenzima A.) Em procariotos, a *ácido graxo-sintase* é um complexo multienzimático, e o domínio 4'-fosfopanteteína é uma proteína separada, chamada proteína carregadora de acilas (ACP). ACP é o termo utilizado neste texto para designar o domínio da molécula da *ácido graxo-sintase* em eucariotos que se liga à fosfopanteteína. Os números nos colchetes a seguir se referem à Figura 16.9. (Nota: as atividades enzimáticas listadas são, na verdade, domínios catalíticos separados existentes em cada monômero da *ácido graxo-sintase* multicatalítica.)

- [1] Uma molécula de acetato é transferida da acetil-CoA para o grupo -SH da ACP. Domínio: *acetil-CoA-ACP-acetiltransacilase*.
- [2] A seguir, esse fragmento de dois carbonos é transferido para um sítio temporário, o grupo tiol de um resíduo de cisteína da enzima.
- [3] A ACP, agora livre, aceita uma unidade de três carbonos malonato da malonil-CoA. Domínio: *malonil-CoA-ACP-transacilase*.
- [4] O grupo acetila sobre o resíduo de cisteína condensa com o grupo malonila sobre a ACP, liberando o CO_2 originalmente adicionado pela *acetil-CoA-carboxilase*. O resultado é um conjunto de quatro

**Figura 16.8**

Regulação covalente (fosforilação) da *acetil-CoA-carboxilase* (ACC) pela *cinase dependente de AMP* (AMPK), que, por sua vez, é regulada covalente e alostericamente.

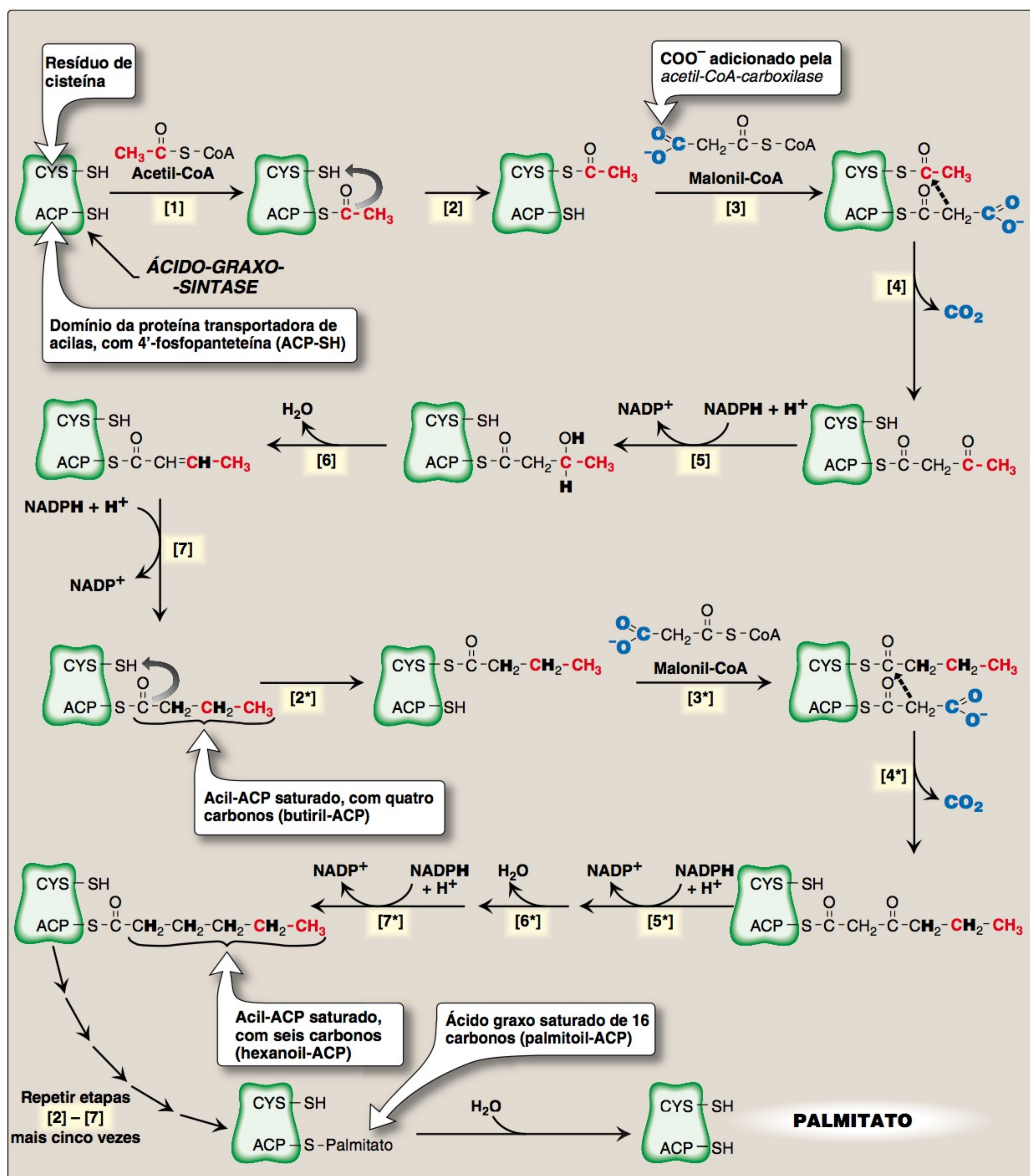


Figura 16.9

Síntese do palmitato (16:0) pela *ácido graxo-sintase* multifuncional. (Nota: os números entre colchetes na figura correspondem aos números entre colchetes no texto. Uma repetição dos passos é indicada por números com asterisco [*]. Os carbonos fornecidos diretamente pela acetil-CoA são mostrados em vermelho).

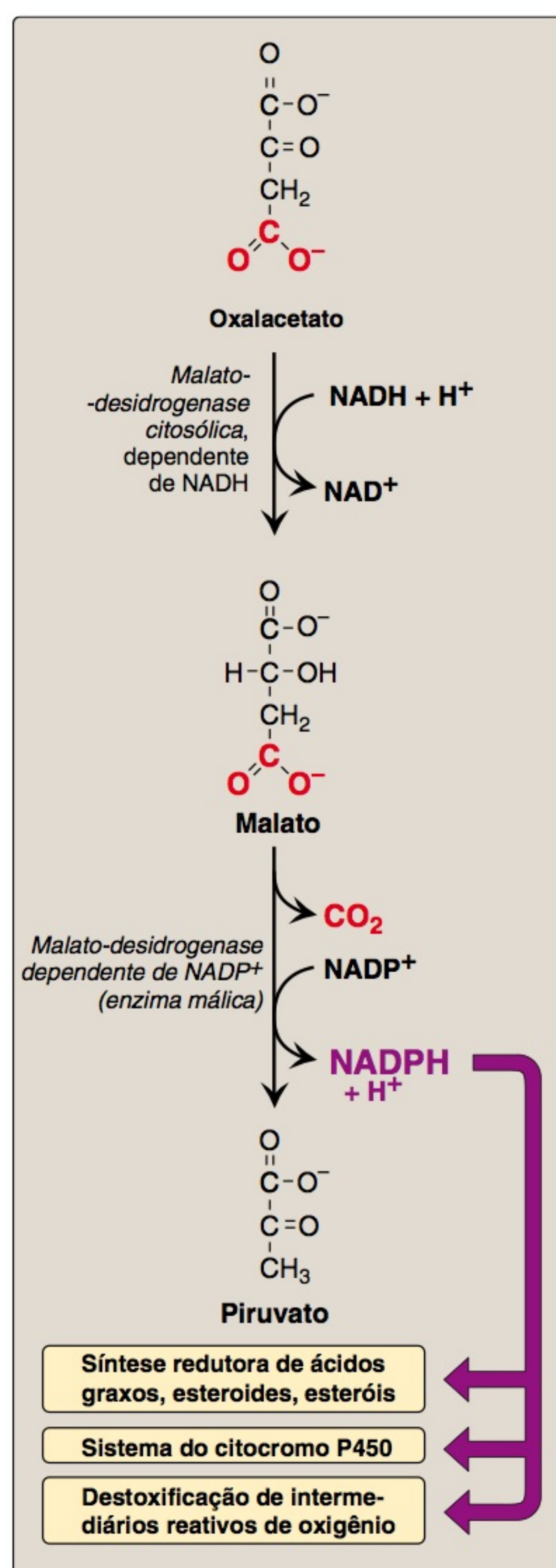


Figura 16.10

Conversão citosólica de oxalacetato em piruvato, com geração de NADPH. (Nota: a via das pentoses-fosfato é a principal fonte de NADPH.)

carbonos, unido ao domínio ACP. A perda de energia livre pela descarboxilação favorece a reação. Domínio: *3-cetoacil-ACP-sintase*.

As próximas três reações convertem o grupo 3-cetoacil em seu grupo correspondente acila saturado, por meio de duas reações de redução utilizando NADPH e uma reação de desidratação.

- [5] O grupo cetona é reduzido a álcool. Domínio: *3-cetoacil-ACP-redutase*.
- [6] Uma molécula de água é removida para introduzir uma ligação dupla entre os carbonos 2 e 3 (os carbonos α e β). Domínio: *3-hidroxiacil-ACP-desidratase*.
- [7] A ligação dupla é reduzida. Domínio: *enoi-AC-redutase*.

O resultado dessas sete etapas é a produção de um composto com quatro carbonos (butiril), cujos três carbonos terminais são totalmente saturados e que permanece unido à ACP. As sete etapas são repetidas, começando com a transferência da cadeia butiril da ACP para o resíduo de cisteína [2*], a ligação da molécula de malonato à ACP [3*] e a condensação das duas moléculas, liberando CO₂ [4*]. O grupo carbonila do carbono β (carbono 3 – o terceiro carbono a partir do enxofre) é então reduzido [5*], desidratado [6*] e novamente reduzido [7*], gerando hexanoil-ACP. Esse ciclo de reações é repetido mais cinco vezes, cada vez incorporando uma unidade de dois carbonos (derivada do malonil-CoA) na extremidade carboxila da cadeia do ácido graxo em crescimento. Quando o ácido graxo atinge o comprimento de 16 carbonos, o processo de síntese é terminado com palmitoil-S-ACP. (Nota: ácidos graxos de cadeia mais curta são produtos finais importantes na glândula mamária em lactação.) A *palmitoil-tioesterase* cliva a ligação tioéster, produzindo uma molécula de palmitato plenamente saturada (16:0). (Nota: todos os carbonos do ácido palmítico passaram pela formação do malonil-CoA, exceto os dois carbonos doados pela acetil-CoA original, que são encontrados na extremidade metila (ω) do ácido graxo. Isso salienta a velocidade limitante da reação da *acetil-CoA-carboxilase*.)

D. Principais fontes do NADPH necessário para a síntese de ácidos graxos

A via das pentoses-fosfato (veja p. 145) é o maior fornecedor do NADPH para a síntese de ácidos graxos. Dois NADPH são produzidos por molécula de glicose que entra nessa via. A conversão citosólica do malato a piruvato, em que o malato é oxidado e descarboxilado pela *enzima málica* citosólica (*malato-desidrogenase dependente de NADP⁺*), também produz NADPH citosólico (e CO₂, Figura 16.10). (Nota: o malato pode provir da redução do oxalacetato [OAA] pela ação da *malato-desidrogenase dependente de NADH* citosólica [Figura 16.10]. Uma das fontes do NADH citosólico necessário para essa reação é o produzido durante a glicólise [veja a p. 101]. O OAA, por sua vez, pode ser sintetizado a partir do citrato. Observe, na Figura 16.6, que o citrato move-se da mitocôndria para o citosol, onde é clivado em acetil-CoA e OAA pela *ATP-citrato liase*.) Um resumo das interrelações entre o metabolismo da glicose e a síntese de ácido palmítico é mostrado na Figura 16.11.

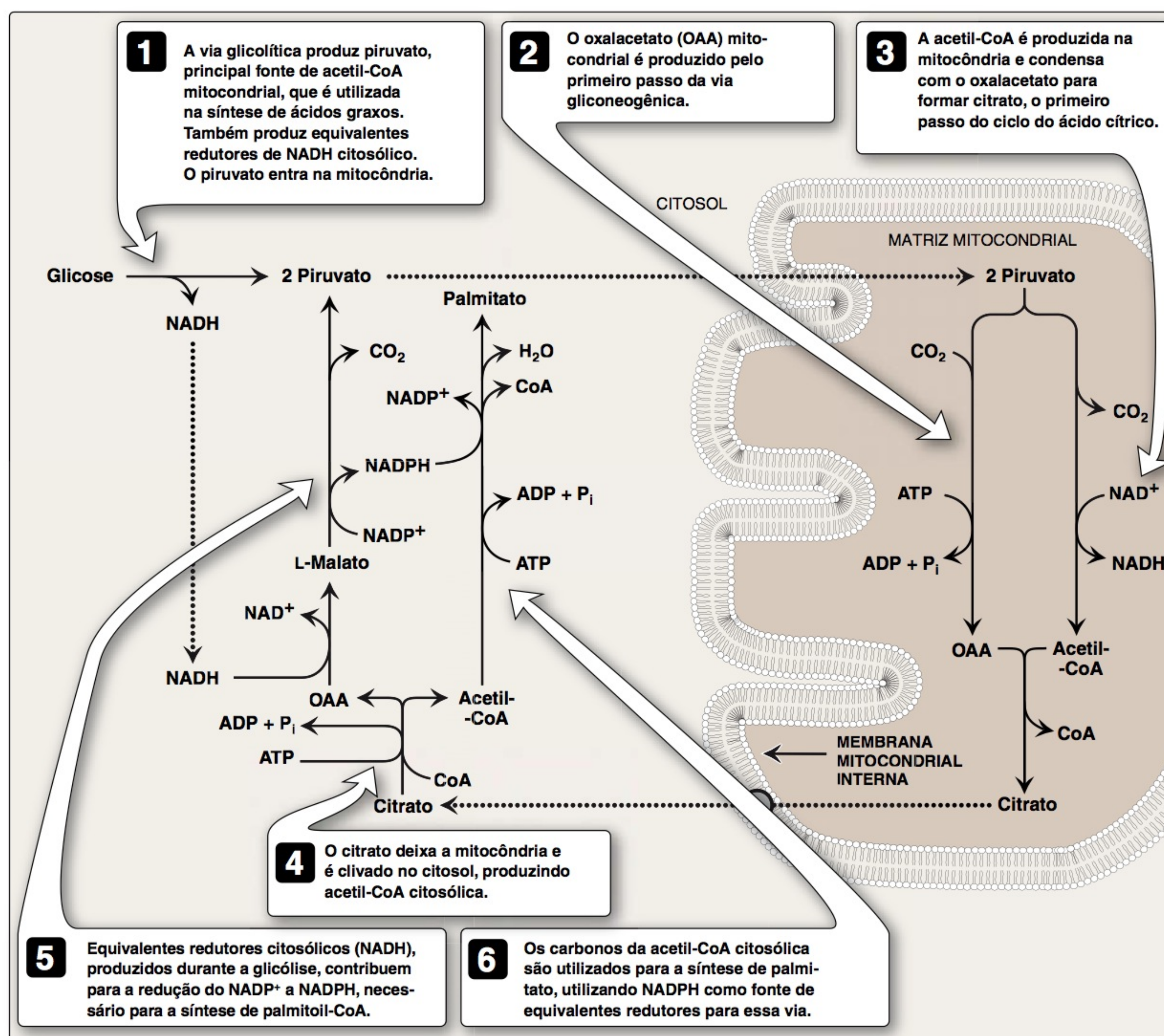
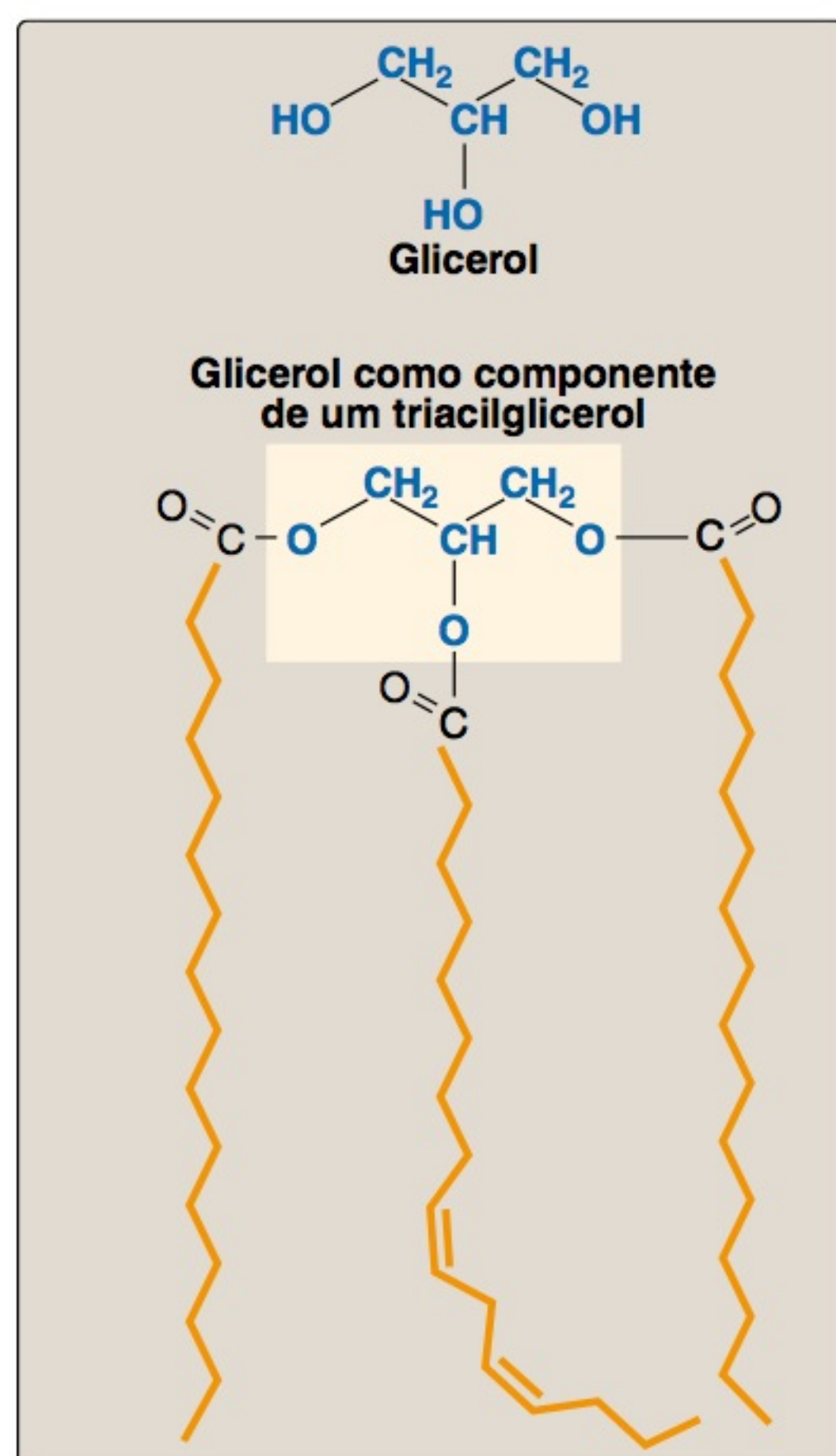


Figura 16.11

Inter-relação entre o metabolismo da glicose e a síntese de palmitato.

E. Elongação posterior da cadeia dos ácidos graxos

Embora o palmitato, ácido graxo de cadeia longa com 16 carbonos plenamente saturado (16:0), seja o produto final da atividade da *ácido graxo-sintase*, ele pode ser posteriormente alongado pela adição de unidades de dois carbonos no retículo endoplasmático liso (REL). A elongação requer um sistema de enzimas separadas em vez de uma enzima multifuncional. Malonil-CoA é o doador de dois carbonos e NADPH fornece os elétrons. O encéfalo possui capacidade adicional de elongação, permitindo a produção dos ácidos graxos de cadeia muito longa (acima de 22 carbonos), necessários para a síntese de lipídeos do sistema nervoso central.

**Figura 16.12**

Um triacilglicerol com um ácido graxo insaturado ligado ao carbono 2.

F. Dessaturação das cadeias de ácidos graxos

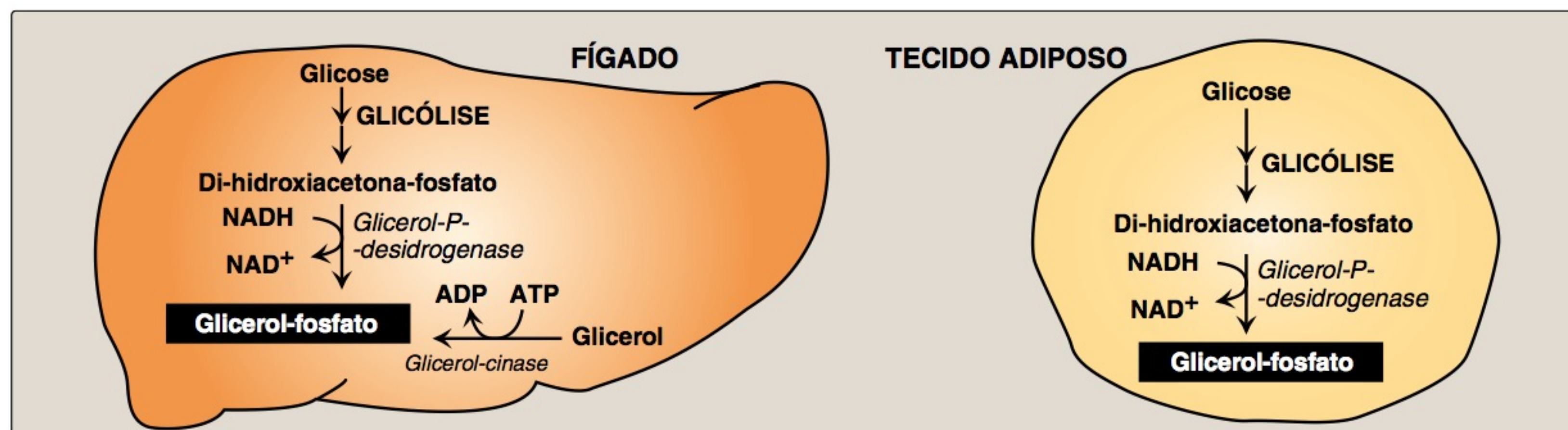
Enzimas (*dessaturases*) também presentes no REL são responsáveis pela dessaturação dos ácidos graxos de cadeia longa (ou seja, pela adição de ligações duplas na configuração *cis*). As reações de dessaturação requerem NADH, citocromo b₅ e sua *redutase* ligada ao FAD. A primeira ligação dupla é tipicamente inserida entre os carbonos 9 e 10, produzindo principalmente 18:1(9) e pequena quantidade de 16:1(9). Uma variedade de ácidos graxos poli-insaturados pode ser produzida por meio de dessaturação adicional combinada com elongação.

Os humanos têm *dessaturases* para os carbonos 9, 6, 5 e 4, mas não apresentam a capacidade de introduzir ligações duplas a partir do carbono 10 até o carbono terminal (ω) da cadeia. Essa é a razão pela qual os ácidos poli-insaturados linoleico e linolênico são nutricionalmente essenciais.

G. Armazenamento dos ácidos graxos como componentes dos triacilgliceróis

Mono-, di- e triacilgliceróis consistem em uma, duas ou três moléculas de ácidos graxos esterificando uma molécula de glicerol. Os ácidos graxos são esterificados por meio de seus grupos carboxila, resultando na perda da carga negativa e na formação de um “lípeido neutro”. (Nota: se uma espécie de acilglicerol for sólida à temperatura ambiente, é chamada de “gordura”; se for líquida, é chamada de “óleo”).

- Estrutura dos triacilgliceróis (TAG).** Os três ácidos graxos que esterificam uma molécula de glicerol normalmente são de tipos diferentes. Em geral, o ácido graxo do carbono 1 é saturado, o do carbono 2 é insaturado e o do carbono 3 pode ser saturado ou insaturado. Lembre que a presença de ácido(s) graxo(s) insaturado(s) diminui a temperatura de fusão (T_f) do lípeido. Um exemplo de molécula de TAG é mostrado na Figura 16.12.
- Armazenamento de TAG.** Como os TAG são muito pouco solúveis em água e não conseguem formar micelas estáveis por conta própria, eles coalescem dentro dos adipócitos, formando gotículas

**Figura 16.13**

Vias para a produção de glicerol-fosfato no fígado e no tecido adiposo.

oleosas quase anidras. Essas pequenas gotas lipídicas no citosol são a maior reserva energética do organismo.

3. **Síntese de glicerol-fosfato.** O glicerol-fosfato é o aceitador inicial dos ácidos graxos durante a síntese de TAG. Existem duas vias para a produção de glicerol-fosfato (Figura 16.13). No fígado (principal sítio de síntese de TAG) e no tecido adiposo, a produção de glicerol-fosfato pode ocorrer a partir da glicose, usando inicialmente as reações da rota glicolítica até a produção de di-hidroxiacetona-fosfato (DHAP, veja a p. 101). Após, a DHAP é reduzida a glicerol-fosfato, pela *glicerol-fosfato-desidrogenase*. Uma segunda via, observada no fígado, mas não no tecido adiposo, utiliza a *glicerol-cinase* para converter glicerol livre em glicerol-fosfato (Figura 16.13). (Nota: nos adipócitos, o transportador de glicose [GLUT-4] é dependente de insulina [veja a p. 312]. Logo, quando os níveis de glicose plasmática – e, conseqüentemente, de insulina plasmática – estão baixos, os adipócitos apresentam apenas uma capacidade limitada de sintetizar glicerol-fosfato, e não podem produzir TAG.)
4. **Conversão do ácido graxo livre em sua forma ativada.** Os ácidos graxos precisam ser convertidos em sua forma ativada (unidos à CoA) para participarem de processos metabólicos como a síntese de TAG. Essa reação, ilustrada na Figura 15.6, é catalisada por uma família de *acil-CoA-sintetases* (*tiocinases*).
5. **Síntese de TAG a partir de glicerol-fosfato e acil-CoA.** Essa via envolve quatro reações, mostradas na Figura 16.14. Essas reações incluem a adição sequencial de dois ácidos graxos a partir de acil-CoA, a remoção de fosfato e a adição de um terceiro ácido graxo.

H. Diferentes destinos de TAG no fígado e no tecido adiposo

No tecido adiposo branco, o TAG é armazenado no citosol das células na forma de gotas lipídicas quase anidras. Ele funciona como “depósito de gordura”, pronto a ser mobilizado caso o organismo necessite dele como fonte de energia. Pouco TAG é armazenado no fígado; a maior parte é exportada, empacotada com outros lipídeos e apoproteínas para formar partículas de lipoproteínas chamadas de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL). A VLDL nascente é secretada para o sangue, onde amadurece e funciona entregando lipídeos endógenos para os tecidos periféricos. (Nota: observe que os quilomicra entregam principalmente os lipídeos da dieta [exógenos].) As lipoproteínas plasmáticas são discutidas no Capítulo 18.

IV. MOBILIZAÇÃO DOS DEPÓSITOS DE GORDURA E OXIDAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos armazenados no tecido adiposo, na forma de TAG neutro, são a principal reserva de combustível do organismo. Os TAG fornecem estoques concentrados de energia metabólica, pois são altamente reduzidos e muito anidros. A oxidação completa dos ácidos graxos a CO_2 e H_2O gera 9 kcal/g de gordura (comparadas às 4 kcal/g produzidas por proteínas ou carboidratos; veja a Figura 27.5). (Nota: as lipoproteínas também suprem os tecidos com ácidos graxos – veja a p. 228.)

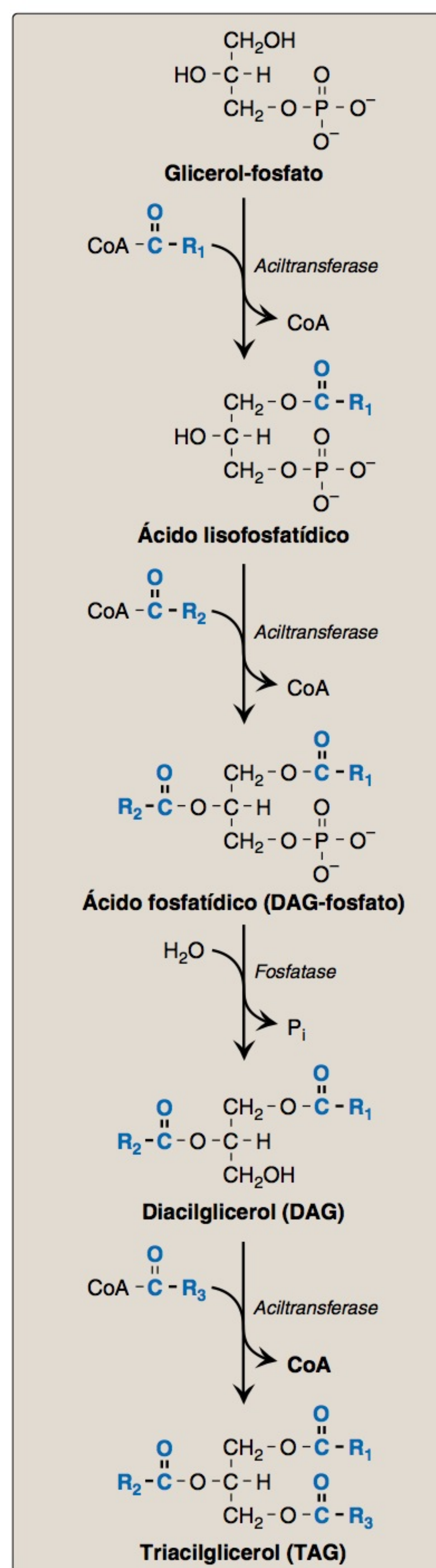
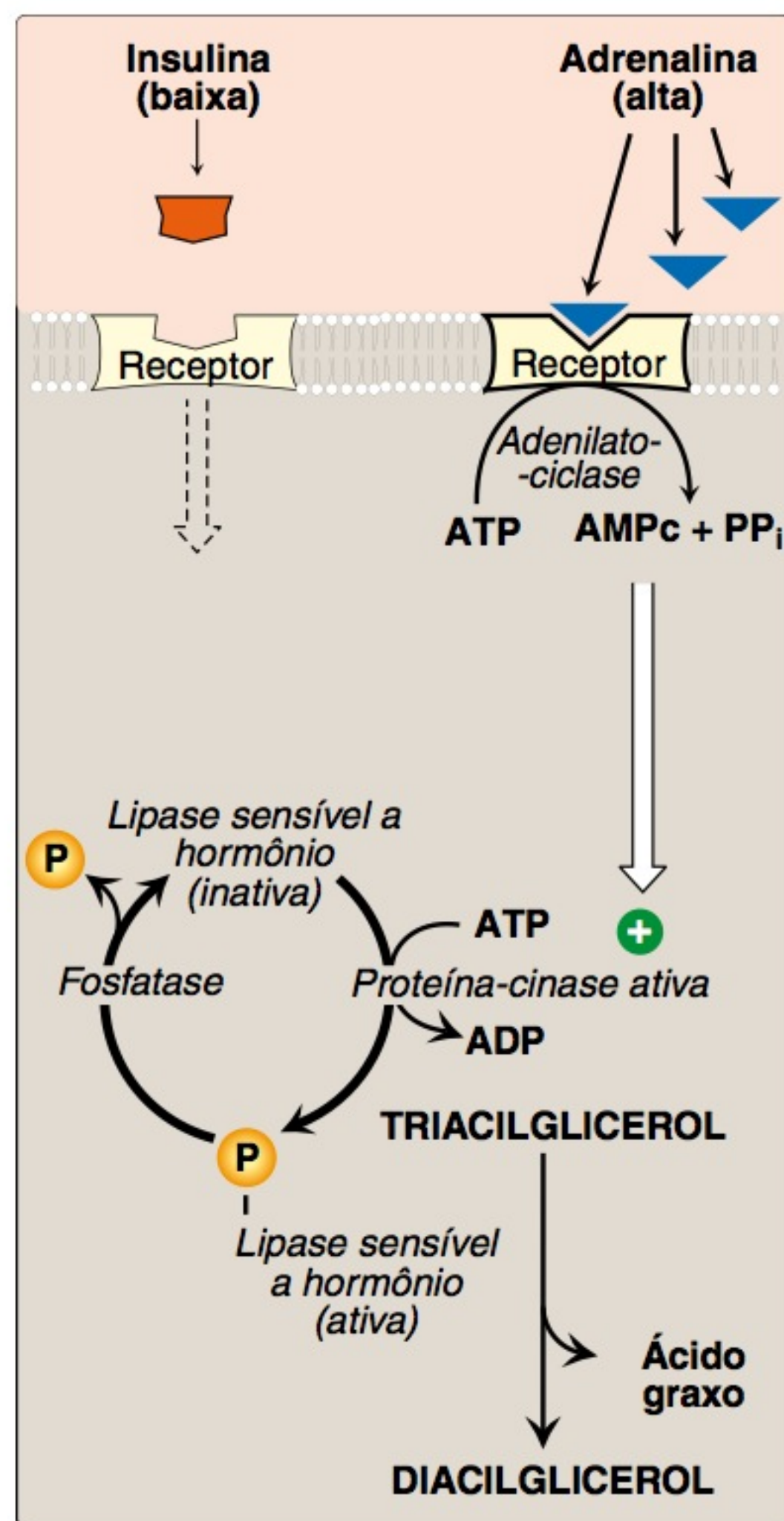


Figura 16.14

Síntese de triacilglicerol.

**Figura 16.15**

Regulação hormonal da degradação de triacilgliceróis no adipócito.

A. Liberação dos ácidos graxos dos TAG

A mobilização dos lipídeos armazenados requer a liberação hidrolítica do ácido graxo e do glicerol a partir do TAG. Esse processo é iniciado por uma *lipase sensível a hormônio*, que remove o ácido graxo do carbono 1 e/ou do carbono 3 do TAG. *Lipases* adicionais, específicas para diacilglicerol ou monoacilglicerol, removem os ácidos graxos remanescentes.

1. **Ativação da lipase sensível a hormônio (LSH).** Essa enzima é ativada ao ser fosforilada por uma *proteína-quinase dependente de 3',5'-AMP cíclico (AMPc)*. O 3',5'-AMP cíclico é produzido no adipócito quando um dentre vários hormônios (como a adrenalina ou o glucagon) liga-se a seu receptor na membrana celular e ativa a *adenilato-ciclase* (Figura 16.15). O processo é similar à ativação da *glicogênio-fosforilase* (veja a Figura 11.10). (Nota: uma vez que a *acetil-CoA-carboxilase* é inibida por fosforilação mediada por hormônio quando a cascata via AMPc é ativada [Figura 16.8], a síntese de ácidos graxos é suspensa quando a degradação de TAG é acionada.) Na presença de altas concentrações plasmáticas de insulina e glicose, a *LSH* é desfosforilada e torna-se inativa.
2. **Destino do glicerol.** O glicerol liberado durante a degradação de TAG não pode ser metabolizado nos adipócitos, pois eles aparentemente não possuem a enzima *glicerol-cinase*. Assim, o glicerol é transportado pela circulação sanguínea ao fígado, onde pode ser fosforilado. O glicerol-fosfato resultante pode ser utilizado para sintetizar TAG no fígado ou ser convertido em DHAP pela reversão da reação da *glicerol-fosfato-desidrogenase*, ilustrada na Figura 16.13. A DHAP pode participar na glicólise ou na gliconeogênese.
3. **Destino dos ácidos graxos.** Os ácidos graxos livres (não esterificados) movem-se através da membrana celular dos adipócitos e ligam-se à albumina no plasma. Eles são transportados aos tecidos, entram nas células, tornam-se ativados formando derivados de CoA e são oxidados para produzir energia. Independentemente de seus níveis plasmáticos, os ácidos graxos livres (AGL) não podem ser utilizados como combustível pelos eritrócitos, pois estes não possuem mitocôndrias. O sistema nervoso central, por sua vez, também não pode utilizar ácidos graxos para obter energia, mas as razões não estão claras. (Nota: mais de 50% dos ácidos graxos liberados dos triacilgliceróis do tecido adiposo são reesterificados ao glicerol-3-fosfato. O tecido adiposo branco não expressa a *glicerol-cinase*, e o glicerol fosforilado é produzido pela gliceroneogênese, uma versão incompleta da gliconeogênese: piruvato a PEP a OAA a DHAP a glicerol-3-fosfato. O processo diminui os ácidos graxos livres plasmáticos, que estão associados com a resistência à insulina na diabetes do tipo 2 e na obesidade – veja a p. 343.)

B. β -oxidação de ácidos graxos

A principal via para o catabolismo dos ácidos graxos ocorre na mitocôndria, chamada de β -oxidação, em que fragmentos de dois carbonos são removidos sucessivamente a partir da carboxila terminal da acil-CoA, produzindo acetil-CoA, NADH e FADH₂.

1. **Transporte de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) para dentro da mitocôndria.** Após entrar na célula, o AGCL é convertido no citosol em um derivado ligado à CoA pela *acil-CoA-sintetase dos ácidos graxos de cadeia longa (tiocinase)*, uma enzima da membrana externa da mitocôndria. Visto que a β -oxidação ocorre na matriz mitocondrial, o ácido graxo precisa ser transportado através da mem-

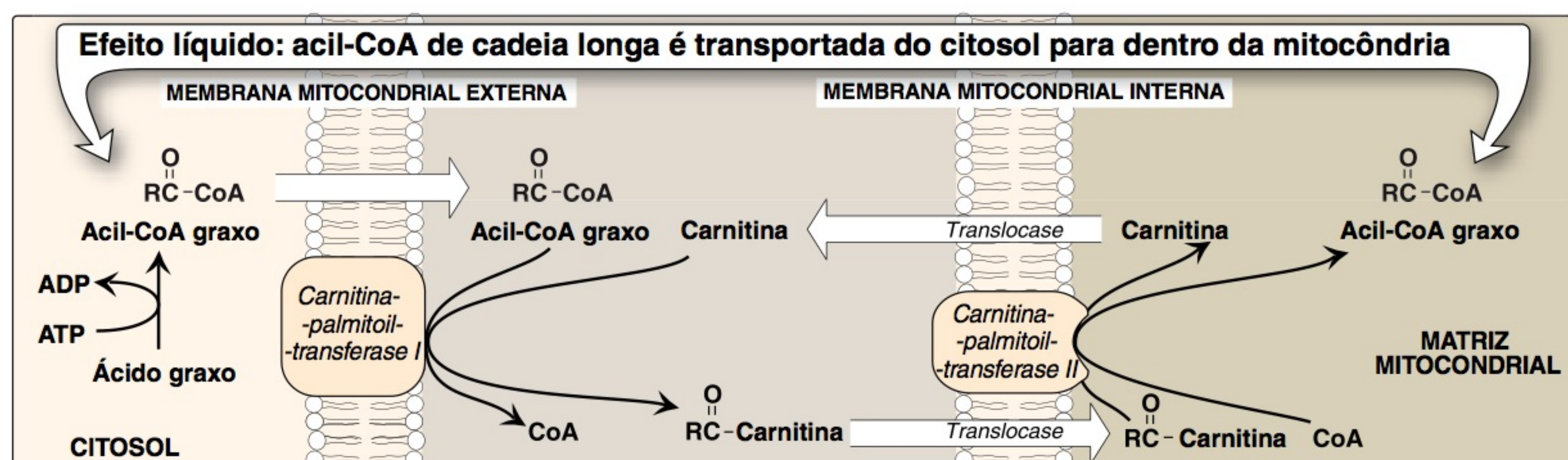
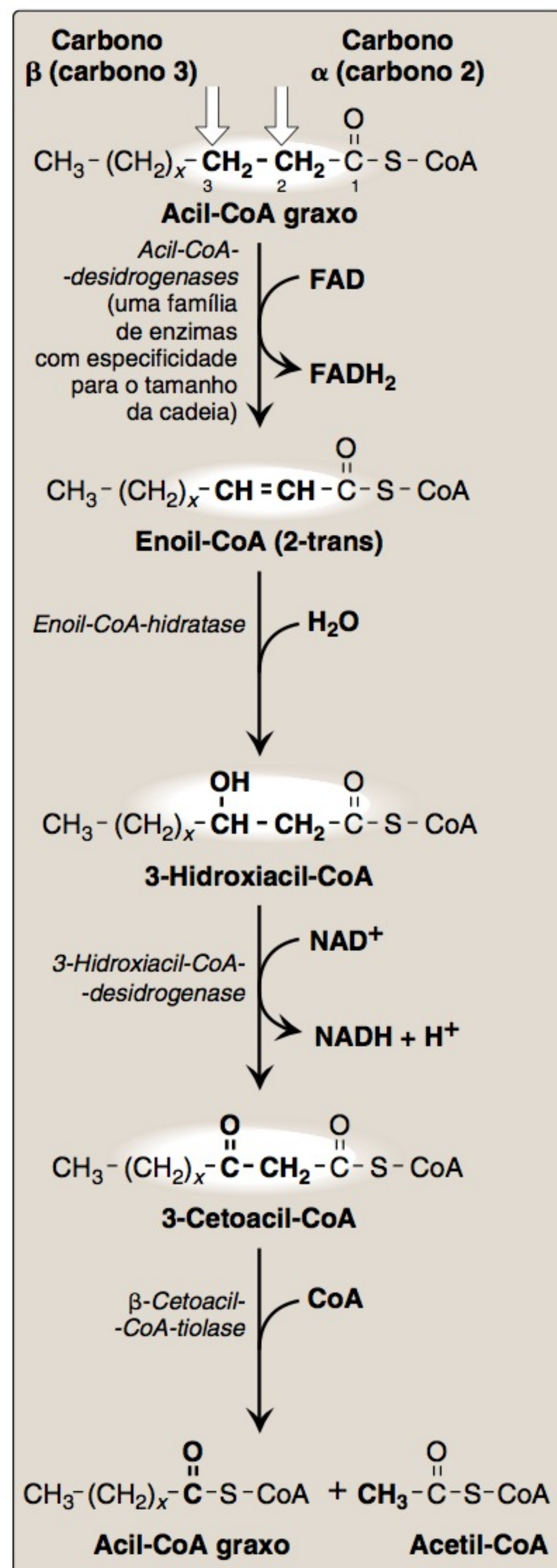


Figura 16.16

Lançadeira da carnitina. (Nota: a *acil-CoA-sintetase dos ácidos graxos de cadeia longa* localiza-se na membrana mitocondrial externa; seu sítio ativo está voltado para o citosol.)

brana interna da mitocôndria, que é impermeável à CoA. Assim, um transportador especializado carrega o grupo acila de cadeia longa do citosol para a matriz da mitocôndria. Esse transportador é a carnitina, e esse processo de transporte limitante de velocidade chama-se lançadeira da carnitina (Figura 16.16).

- a. **Etapas para a translocação do AGCL.** O grupo acila é inicialmente transferido da CoA para a carnitina pela *carnitina-palmitoil-transferase I* (*CPT-I*), enzima associada à membrana externa da mitocôndria. (Nota: a *CPT-I* é também conhecida como *CAT-I*, *carnitina-aciltransferase I*.) Essa reação forma acil-carnitina e regenera CoA livre. A seguir, a acil-carnitina é transportada para dentro da matriz mitocondrial pela *carnitina-acilcarnitina-translocase*, sendo trocada por carnitina livre. A *carnitina-palmitoiltransferase II* (*CPT-II*, ou *CAT-II*) – enzima da membrana interna da mitocôndria – catalisa a transferência do grupo acila da carnitina para a CoA na matriz mitocondrial, regenerando, então, a carnitina livre.
- b. **Inibidor da lançadeira da carnitina.** A malonil-CoA inibe a *CPT-I*, impedindo a entrada de grupos acila de cadeia longa na matriz mitocondrial. Assim, quando a síntese de ácidos graxos ocorre no citosol (indicado pela presença de malonil-CoA), o palmitato recentemente formado não pode ser transferido para o interior da mitocôndria e ser degradado. (Nota: músculo, que não sintetiza ácidos graxos, contém uma isoforma mitocondrial da *acetil-CoA carboxilase* (*ACC2*), que permite ao músculo regular a β -oxidação.) A oxidação de ácidos graxos é também regulada pela razão acetil-CoA/CoA: se a razão aumenta, a velocidade da reação da *tiolase*, que requer CoA, diminui (Figura 16.17).
- c. **Fontes de carnitina.** A carnitina pode ser obtida a partir da dieta, sendo encontrada principalmente nas carnes. Pode também ser sintetizada a partir dos aminoácidos lisina e metionina por vias enzimáticas encontradas no fígado e nos rins, mas não nos músculos esquelético e cardíaco. Assim, esses últimos tecidos são totalmente dependentes da carnitina distribuída pelo sangue, proveniente da síntese endógena ou da dieta. (Nota: o músculo esquelético contém cerca de 97% de toda a carnitina presente no corpo.)

**Figura 16.17**

Enzimas envolvidas na β -oxidação de acil-CoA graxo. (Nota: A *enol-CoA-hidratase* requer uma ligação dupla em configuração trans entre os carbonos 2 e 3.)

d. Deficiências de carnitina. Tais deficiências resultam na diminuição da capacidade do tecido de utilizar AGCL como combustível metabólico. A deficiência secundária de carnitina ocorre por muitas razões, incluindo: 1) doenças hepáticas que provocam diminuição na síntese de carnitina; 2) indivíduos subnutridos ou estritamente vegetarianos; 3) indivíduos com maior necessidade de carnitina, resultante, por exemplo, de gestação, infecções graves, queimaduras e traumas; ou 4) pacientes submetidos a hemodiálise, que remove carnitina do sangue. Deficiências congênitas num dos componentes do sistema da *carnitina-palmitoiltransferase*, na reabsorção de carnitina no túbulo renal ou na captação de carnitina pelas células podem causar deficiência primária de carnitina. A deficiência genética de *CPT-I* afeta o fígado, incapacitando-o de utilizar AGCL como combustível e prejudicando, assim, a capacidade desse tecido de sintetizar glicose durante o jejum. Isso pode levar à hipoglicemia grave, coma e morte. A deficiência de *CPT-II* ocorre principalmente nos músculos cardíaco e esquelético, onde os sintomas de deficiência de carnitina variam desde cardiomiopatia até fraqueza muscular com mioglobinemia após exercício prolongado. (Nota: esse é um exemplo de como o prejuízo no fluxo de metabólitos de um compartimento celular a outro resulta em patologia.) O tratamento inclui evitar jejum prolongado, adotando uma dieta rica em carboidratos e baixa em AGCL, mas suplementada com ácidos graxos de cadeia média e carnitina.

2. Entrada de ácidos graxos de cadeia curta e média na mitocôndria. Ácidos graxos menores do que 12 carbonos podem atravessar a membrana interna da mitocôndria sem necessitar de carnitina ou do sistema *CPT*. Uma vez internalizados na mitocôndria, eles são ativados em seus derivados de coenzima A por enzimas da matriz e são oxidados. (Nota: ácidos graxos de cadeia média são abundantes no leite humano. Como sua oxidação não é dependente da *CPT-I*, ela não é sujeita à inibição pela malonil-CoA.)

3. Reações de β -oxidação. O primeiro ciclo da β -oxidação é mostrado na Figura 16.17. Consiste em uma sequência de quatro reações envolvendo o carbono β (carbono 3), a qual resulta na diminuição da cadeia do ácido graxo em dois carbonos. As etapas incluem uma oxidação que produz FADH_2 , uma etapa de hidratação, uma segunda oxidação que produz NADH e uma clivagem tiólica que libera uma molécula de acetil-CoA. Cada etapa é catalisada por enzimas com especificidade em relação ao comprimento da cadeia. Para os ácidos graxos saturados com número par de átomos de carbono, essas quatro etapas são repetidas em um número de vezes igual a $(n/2)-1$ (onde n é o número de carbonos); cada ciclo produz um grupo acetila mais um NADH e um FADH_2 . A última clivagem tiólica produz dois grupos acetila. (Nota: a acetil-CoA é um efetor alostérico positivo da *piruvato-carboxilase* [veja a p. 119], ligando a oxidação de ácidos graxos à gliconeogênese.)

4. Energia produzida pela oxidação dos ácidos graxos. Uma grande quantidade de energia é produzida pela β -oxidação. Por exemplo, a oxidação de uma molécula de palmitoil-CoA a CO_2 e H_2O produz oito acetil-CoA, sete NADH e sete FADH_2 , que podem produzir 131 ATP; entretanto, a ativação do ácido graxo utiliza dois ATP. Assim, o balanço final resulta em 129 ATP a partir de palmitato (Figura 16.18). Uma comparação entre os processos de síntese e degradação de ácidos graxos saturados de cadeia longa com número par de carbonos é mostrada na Figura 16.19.

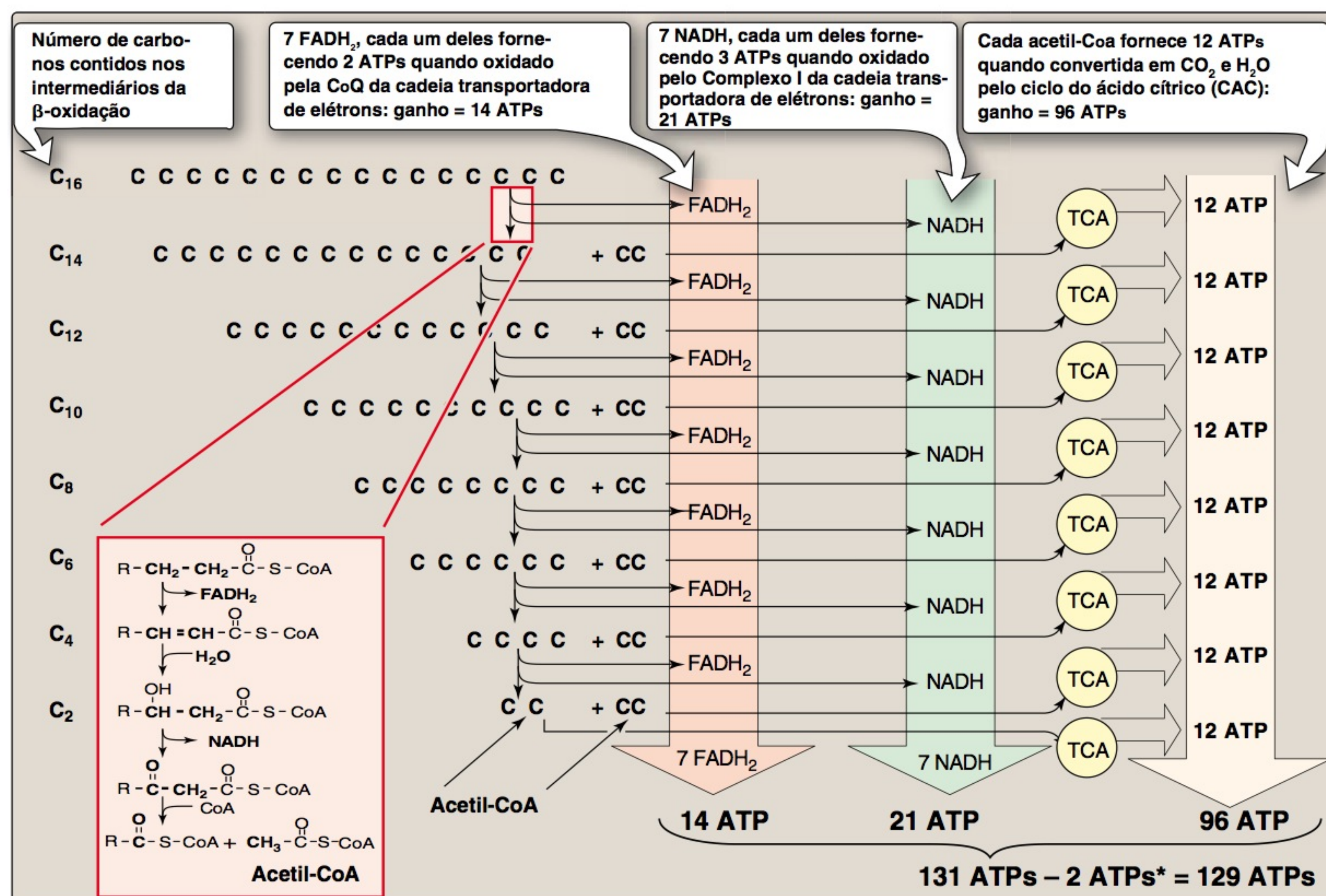


Figura 16.18

Resumo do ganho energético obtido pela oxidação de palmitoil-CoA (16 carbonos). CC = acetil-CoA. *A ativação do palmitato a palmitoil-CoA requer dois ATPs.

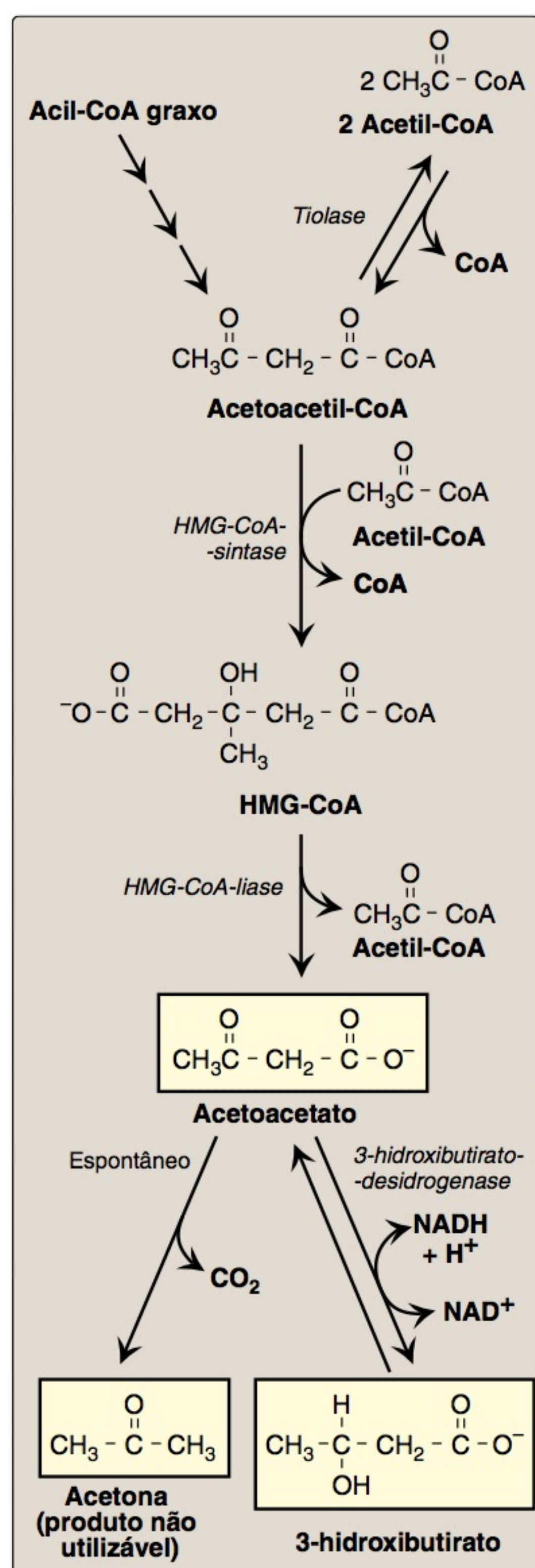
- Deficiência de acil-CoA-desidrogenase de ácidos graxos de cadeia média (DAGCM).** Na mitocôndria, existem quatro espécies de *acil-CoA-desidrogenases*, cada uma específica para ácidos graxos de cadeia curta, média, longa ou muito longa. A deficiência na *DAGCM* é uma doença autossômica recessiva; é um dos erros inatos mais comuns do metabolismo e o erro inato mais comum na oxidação de ácidos graxos, encontrada com frequência de 1:14.000 nascimentos no mundo inteiro, com uma alta incidência em norteeuropeus. Essa deficiência resulta na diminuição da capacidade de oxidar ácidos graxos de seis a 10 carbonos (estes acumulam e são medidos na urina) e causa hipoglicemia grave (pois os tecidos necessitam aumentar o consumo de glicose). O tratamento inclui evitar jejum. A deficiência de *DAGCM* tem sido identificada como a causa de alguns casos relatados originalmente como síndrome da morte súbita em crianças ou como Síndrome de Reye.
- Oxidação de ácidos graxos com número ímpar de carbonos.** A β-oxidação dos ácidos graxos saturados com número ímpar de carbonos acontece pelas mesmas etapas de reações dos ácidos graxos com número par de carbonos, finalizando com a formação de uma molécula de três carbonos. Esse composto, o propionil-CoA, é metabolizado em uma via de três reações (Figura 16.20). (Nota: o propionil-CoA é produzido também durante o metabolismo de certos aminoácidos – veja a Figura 20.10.)

SÍNTESE		DEGRADAÇÃO
Maior fluxo na via	Após refeição rica em carboidratos	No jejum
Estado hormonal que favorece a via	Razão elevada insulina/glucagon	Diminuição na razão insulina/glucagon
Principal tecido onde ocorre	Principalmente fígado	Músculo, fígado
Localização subcelular	Principalmente citosol	Principalmente mitocôndria
Transportador de grupos acila/acetila entre mitocôndria e citosol	Citrato (da mitocôndria para o citosol)	Carnitina (do citosol para a mitocôndria)
Carregadores ativos contendo fosfopanteteína	Domínio proteína carregadora de acilas, coenzima A	Coenzima A
Coenzimas de oxidação/redução	NADPH (redução)	NAD ⁺ , FAD (oxidação)
Doador/produto de dois carbonos	Malonil-CoA (doador de grupos acetila)	Acetil-CoA (produto da β -oxidação)
Ativador	Citrato	Malonil-CoA (inibe a <i>carnitina-palmitoil-transferase I</i>)
Inibidor	Acil-CoA de cadeia longa (inibe a <i>acetil-CoA-carboxilase</i>)	
Produto da via	Palmitato	Acetil-CoA
Processo repetitivo de quatro passos	Condensação, redução, desidratação, redução	Desidrogenação, hidratação, desidrogenação, tiólise

Figura 16.19

Comparação entre a síntese e a degradação de ácidos graxos saturados de cadeia longa, com número par de carbonos.

- Síntese de D-metilmalonil-CoA.** Inicialmente, o propionil-CoA é carboxilado formando D-metilmalonil-CoA. A enzima *propionil-CoA-carboxilase*, assim como outras carboxilases, necessita da coenzima biotina (veja a p. 381).
- Formação de L-metilmalonil-CoA.** A seguir, o D-isômero é convertido na forma L pela enzima *metilmalonil-CoA-racemase*.
- Síntese de succinil-CoA.** Finalmente, os carbonos da L-metilmalonil-CoA são rearranjados, formando succinil-CoA, que pode ser utilizada no ciclo do ácido cítrico (veja a p. 109). (Nota: esse é o único exemplo de um precursor glicogênico gerado a partir da oxidação de ácidos graxos.) A enzima *metilmalonil-CoA-mutase* requer uma forma de coenzima da vitamina B₁₂ (desoxiadenosilcobalamina) para sua ação. A reação da *mutase* é uma das duas únicas reações do organismo que requer vitamina B₁₂ (veja a p. 375). (Nota: em pacientes com deficiência de vitamina B₁₂, o propionato e o metilmalonato são excretados na urina. Dois tipos hereditários de acidemia e acidúria metilmalônica têm sido descritos: em um deles, a *mutase* está ausente ou deficiente (ou com menos afinidade pela coenzima) e no outro, o paciente é incapaz de converter a vitamina B₁₂ na sua forma de coenzima. Os dois tipos resultam em acidose metabólica, observando-se retardo no desenvolvimento em alguns pacientes.)

**Figura 16.22**

Síntese dos corpos cetônicos. HMG-CoA = hidroximetilglutaril-CoA.

tecidos periféricos, porque: 1) são solúveis em meio aquoso e, assim, não necessitam ser incorporados a lipoproteínas ou transportados pela albumina, como outros lipídeos; 2) são produzidos no fígado, em períodos em que a quantidade de acetil-CoA excede a capacidade oxidativa do fígado; e 3) são usados pelos tecidos extra-hepáticos, como os músculos esquelético e cardíaco e o córtex renal, em quantidade proporcional a sua concentração no sangue. Até mesmo o encéfalo pode usar corpos cetônicos como fonte de energia, se os níveis sanguíneos aumentarem suficientemente; desse modo, os corpos cetônicos permitem economia de glicose. Isso é especialmente importante durante o jejum prolongado (veja a p. 332.) (Nota: distúrbios da oxidação de ácidos graxos causam um quadro de hipocetose [devido à diminuição no fornecimento de acetil-CoA] e hipoglicemia [devido ao aumento do consumo de glicose para energia].)

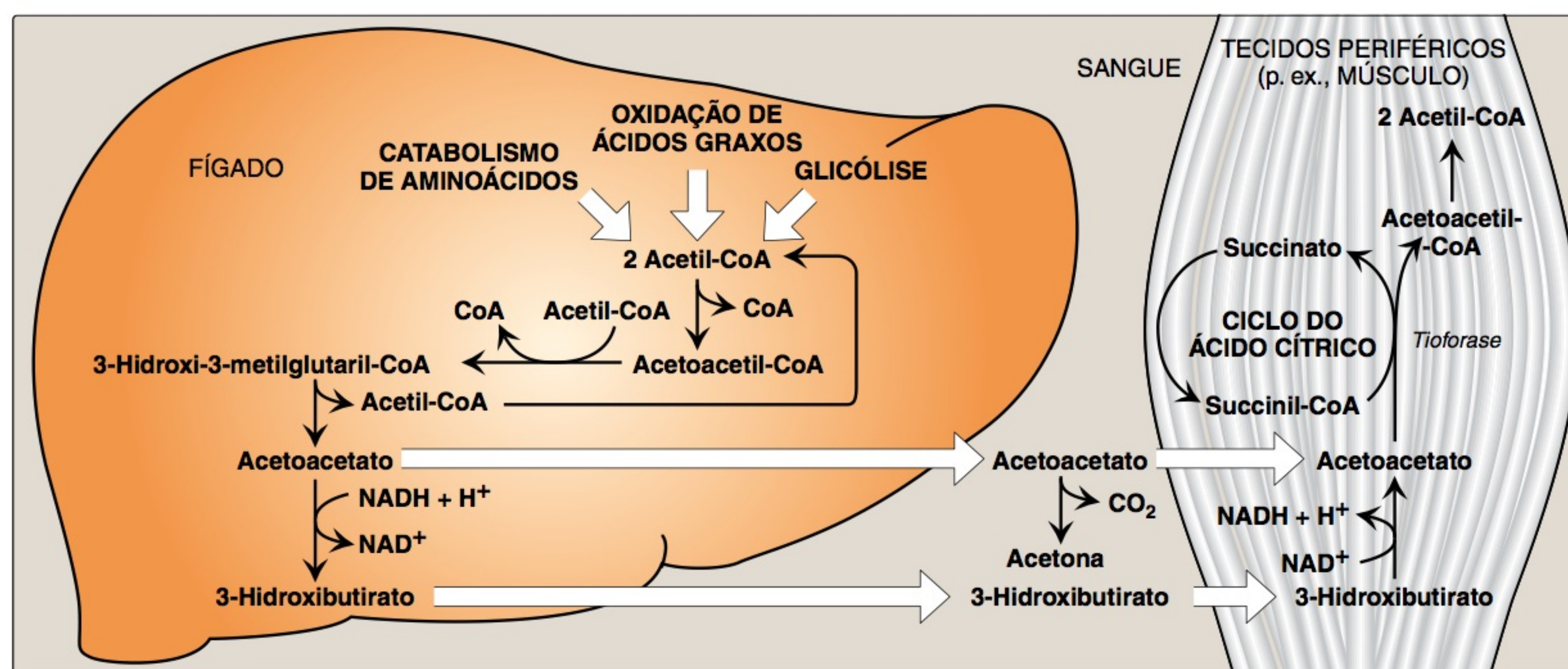
A. Cetogênese: síntese de corpos cetônicos pelo fígado

Durante o jejum, o fígado é inundado com ácidos graxos mobilizados do tecido adiposo. Como resultado, eleva-se a produção de acetil-CoA hepática, principalmente pela degradação de ácidos graxos, e a acetil-CoA inibe a *piruvato-desidrogenase* (veja a p. 111) e ativa a *piruvato-carboxilase* (veja a p. 119). O oxalacetato produzido é usado pelo fígado na gliconeogênese, mais do que no ciclo do ácido cítrico. Desse modo, a acetil-CoA é canalizada para a síntese de corpos cetônicos. (Nota: a oxidação de ácidos graxos diminui a razão NAD^+/NADH , e o aumento de NADH favorece a conversão de OAA em malato (veja p. 113). Isto dirige a acetil-CoA para a cetogênese (Figura 16.24).

1. **Síntese de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA).** A primeira etapa da síntese, formando acetoacetyl-CoA, ocorre pela reversão da reação da *tiolase*, enzima da oxidação de ácidos graxos (Figura 16.17). A *HMG-CoA-sintase* mitocondrial combina uma terceira molécula de acetil-CoA com acetoacetyl-CoA para produzir HMG-CoA. (Nota: o HMG-CoA é também precursor do colesterol – veja a p. 220. Essas vias são separadas por sua localização na célula e pelas condições da célula.) A reação da *HMG-CoA-sintase* é a etapa limitante na síntese de corpos cetônicos e esta enzima ocorre em quantidades significantes somente no fígado.
2. **Síntese de corpos cetônicos.** O HMG-CoA é clivado para produzir acetoacetato e acetil-CoA, conforme a Figura 16.22. O acetoacetato pode ser reduzido para formar 3-hidroxibutirato, utilizando NADH como doador de hidrogênio. O acetoacetato pode também sofrer descarboxilação espontânea no sangue, formando acetona – um composto volátil, não metabolizado biologicamente, que pode ser liberado na respiração. O equilíbrio entre acetoacetato e 3-hidroxibutirato é determinado pela razão NAD^+/NADH . Uma vez que essa relação encontra-se reduzida durante a oxidação dos ácidos graxos, a síntese de 3-hidroxibutirato é favorecida. (Nota: a formação de CoA livre durante a cetogênese permite que a oxidação de ácidos graxos continue.)

B. Cetólise: utilização dos corpos cetônicos pelos tecidos periféricos

Embora o fígado sintetize constantemente níveis baixos de corpos cetônicos, sua produção torna-se muito mais significativa durante o jejum, quando os corpos cetônicos são necessários para produzir energia nos

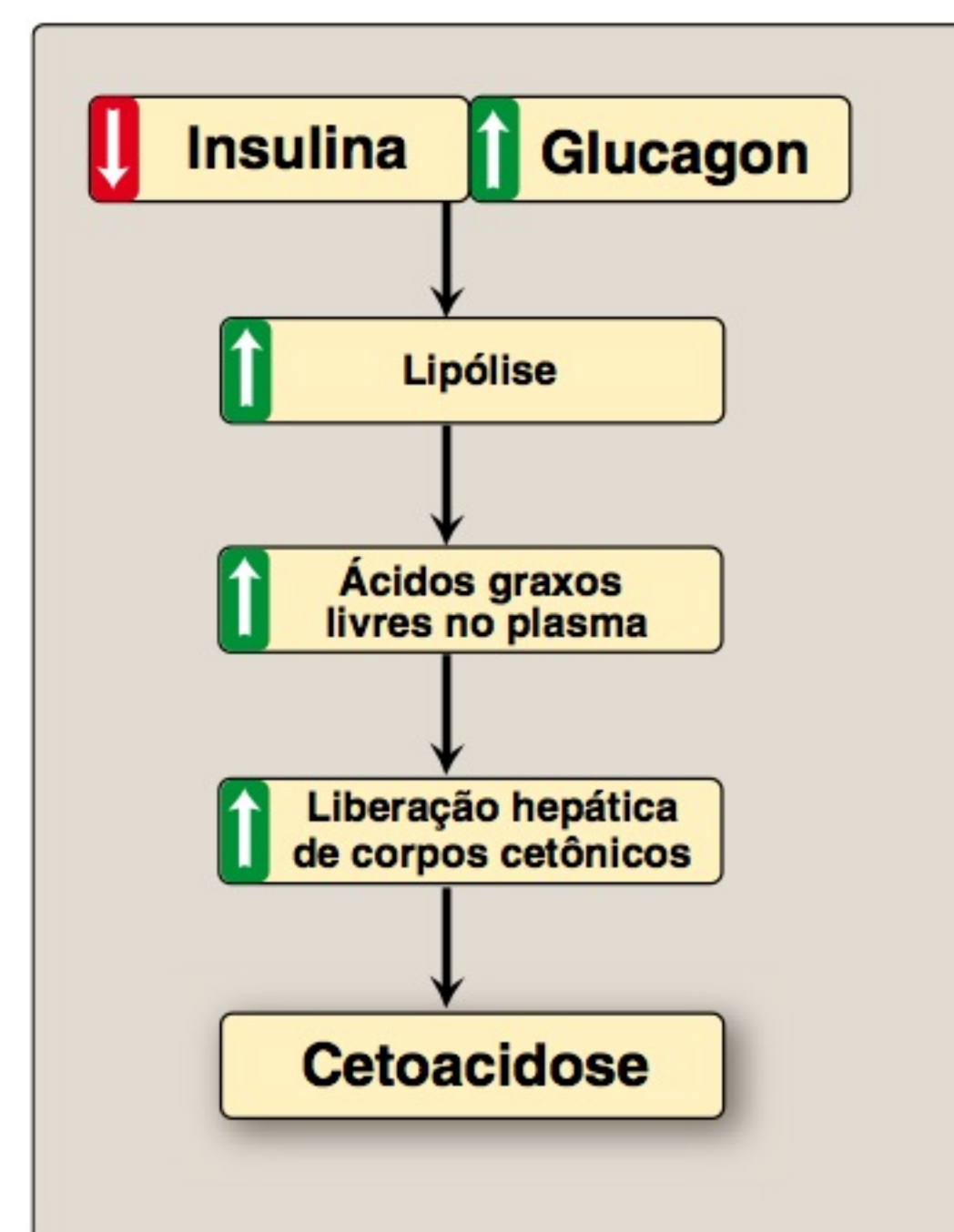

Figura 16.23

Síntese de corpos cetônicos no fígado e sua utilização pelos tecidos periféricos. (Nota: A *tioforase* é também conhecida como *succinil-CoA:acetoacetato-CoA-transferase*.)

tecidos periféricos. O 3-hidroxibutirato é oxidado a acetoacetato pela *3-hidroxibutirato-desidrogenase*, produzindo NADH (Figura 16.23). O acetoacetato recebe então uma molécula de CoA, doada pela succinil-CoA, em uma reação catalisada pela *succinil-CoA:acetoacetato-CoA-transferase* (*tioforase*). Essa reação é reversível, mas o produto, acetoacetyl-CoA, é ativamente removido por sua conversão em duas moléculas de acetil-CoA. Desse modo, os tecidos extra-hepáticos, incluindo o encéfalo, mas excluindo células sem mitocôndria (p. ex., os eritrócitos), oxidam eficientemente o acetoacetato e o 3-hidroxibutirato. O fígado, ao contrário, embora produza corpos cetônicos, não possui a enzima *tioforase* e, portanto, é incapaz de usar corpos cetônicos como combustível.

C. Produção excessiva de corpos cetônicos no diabetes melito

Quando a velocidade de formação dos corpos cetônicos é maior do que a velocidade de seu consumo, seus níveis começam a aumentar no sangue (cetonemia) e, por fim, na urina (cetonúria). Essas duas condições são observadas mais frequentemente em casos não controlados de diabetes melito tipo 1. Em indivíduos diabéticos com cetose grave, a excreção urinária de corpos cetônicos pode ser de até 5.000 mg/24 h, e a concentração sanguínea pode atingir 90 mg/dL (em indivíduos normais, esses valores são menores que 3 mg/dL). Um sintoma frequente da cetoacidose diabética é o odor frutado na respiração, resultante da alta produção de acetona. O aumento da concentração de corpos cetônicos no organismo resulta em acidemia. (Nota: o grupo carboxila de um corpo cetônico tem pK_a ao redor de 4. Logo, cada corpo cetônico libera um próton (H^+) quando circula pelo sangue, diminuindo o pH do organismo. Além disso, a excreção de glicose e corpos cetônicos na urina resultam na desidratação do organismo. Assim, o aumento do número de H^+ na circulação e a diminuição do volume plasmático podem causar acidose grave [cetoacidose].) A cetoacidose pode também ser observada em casos de jejum (veja a p. 330).


Figura 16.24

Mecanismo da cetoacidose diabética, observada no diabetes tipo 1.

VI. RESUMO DO CAPÍTULO

Os ácidos graxos, geralmente cadeias lineares hidrocarbonadas com um grupo carboxila terminal, podem ser **saturados** ou **insaturados**. Dois ácidos graxos são essenciais (devem ser obtidos da dieta): o **ácido linoleico** e o **ácido α -linolênico**. Ácidos graxos são sintetizados no citosol da **célula hepática**, após uma refeição com excesso de carboidratos e proteínas. Os carbonos usados para sintetizar os ácidos graxos são fornecidos pela **acetil-CoA**, a energia, pelo **ATP**, e os equivalentes redutores, pelo **NADPH** (Figura 16.25). O **citrato** carrega unidades acetila de dois carbonos a partir da matriz mitocondrial para o citosol. A etapa reguladora da síntese de ácidos graxos é catalisada pela **acetil-CoA-carboxilase**, que necessita de **biotina**. O **citrato** é o **ativador** alostérico, e o **acil-CoA de cadeia longa** é o **inibidor**. A enzima pode também ser ativada na presença de **insulina** e inativada por **AMPK**, em resposta à **adrenalina** e ao **glucagon**, ou por **aumento de AMP**. As demais etapas da síntese dos ácidos graxos são catalisadas por uma enzima multifuncional, a **ácido graxo-sintase**, que produz **palmitoil-CoA** a partir de acetil-CoA e malonil-CoA, utilizando NADPH (da via das pentoses-fosfato) como fonte de equivalentes redutores. Os ácidos graxos podem ser alongados e dessaturados no RE. Quando os ácidos graxos são requeridos pelo organismo para a produção de energia, a **lipase sensível a hormônio** das células adiposas (**ativada por adrenalina ou glucagon e inibida por insulina**) inicia a degradação dos triacilgliceróis armazenados. Os ácidos graxos são levados pela **albumina sérica** para o fígado e os tecidos periféricos, onde são oxidados para produzir energia. O **glicerol** resultante da degradação dos triacilgliceróis é levado pelo sangue ao **fígado**, onde serve como importante **precursor da gliconeogênese**. A degradação dos ácidos graxos (**β -oxidação**) ocorre na **mitocôndria**. A **lançadeira da carnitina** é necessária para o transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para a matriz mitocondrial. São necessárias uma translocase e as enzimas **carnitina-palmitoil-transferase I e II**. A carnitina-palmitoil-transferase I é **inibida por malonil-CoA**. Isso impede que os ácidos graxos sintetizados no citosol a partir de malonil-CoA sejam transportados para dentro da mitocôndria, onde seriam degradados. Assim que entram na mitocôndria, os ácidos graxos são oxidados, produzindo acetil-CoA, NADH e FADH_2 . A primeira etapa da rota de β -oxidação é catalisada por uma das quatro enzimas da família das acil-CoA-desidrogenases, cada enzima com especificidade para ácidos graxos de cadeia curta, média, longa ou muito longa. A **deficiência na acil-CoA-desidrogenase dos ácidos graxos de cadeia média (DAGCM)** é um dos erros inatos mais comuns do metabolismo. Causa diminuição na oxidação de ácidos graxos (o processo cessa quando ácido graxo de cadeia média é produzido), resultando em hipocetonemia e grave hipoglicemia. A oxidação de ácidos graxos com número ímpar de carbonos ocorre com a liberação de dois carbonos por vez (produzindo acetil-CoA) até restarem três carbonos (**propionil-CoA**). Esse composto é convertido em **metilmalonil-CoA** (reação que precisa de **biotina**), e então convertido em **succinil-CoA** (um precursor gliconeogênico) pela metilmalonil-CoA-mutase (requerendo **vitamina B_{12}**). Erros genéticos na mutase ou deficiência de vitamina B_{12} causam **acidemia e acidúria metilmalônicas**. A β -oxidação de AGCML e a α -oxidação de ácidos graxos ramificados ocorrem nos peroxissomos. A ω -oxidação ocorre no RE. A mitocôndria hepática pode converter acetil-CoA proveniente da oxidação de ácidos graxos nos corpos cetônicos **acetoacetato e 3-hidroxiacetato**. Tecidos periféricos que possuem mitocôndria podem oxidar 3-hidroxiacetato em acetoacetato, que pode ser convertido novamente em acetil-CoA, gerando energia para a célula. Ao contrário dos ácidos graxos, os corpos cetônicos podem ser utilizados pelo **encéfalo** e são importantes combustíveis durante o jejum. O fígado não tem capacidade de degradar corpos cetônicos e, portanto, somente os sintetiza para consumo pelos tecidos periféricos. A **cetoacidose** ocorre quando a velocidade de formação de corpos cetônicos é maior do que sua velocidade de consumo, como se observa em casos não controlados de **diabetes melito tipo 1**.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 16.1 As moléculas de triacilgliceróis armazenadas no tecido adiposo representam a maior reserva de substrato para fornecer energia durante o jejum prolongado. Durante tal jejum:
- A. Os ácidos graxos armazenados são liberados do tecido adiposo ao plasma como componentes das lipoproteínas plasmáticas, VLDL.
 - B. Os ácidos graxos livres são produzidos em alta velocidade no plasma pela ação da lipase lipoproteica sobre os quilomicra.

Resposta correta = D. A lipase sensível a hormônio é fosforilada pela proteína-quinase dependente de AMPc , que, por sua vez, é ativada por adrenalina ou glucagon. Os ácidos graxos liberados do tecido adiposo são transportados pela albumina sérica, não pelas VLDL. Durante o jejum, a quantidade de triacilglicerol na circulação (encontrado nos quilomicra e VLDL) é baixa. Logo, existe pouco substrato para a lipase lipoproteica. O glicerol produzido durante a degradação de triacilgliceróis não pode ser metabolizado nos adipócitos ou fibroblastos, mas pode ser utilizado pelo fígado, onde é fosforilado (pela glicerol-cinase).

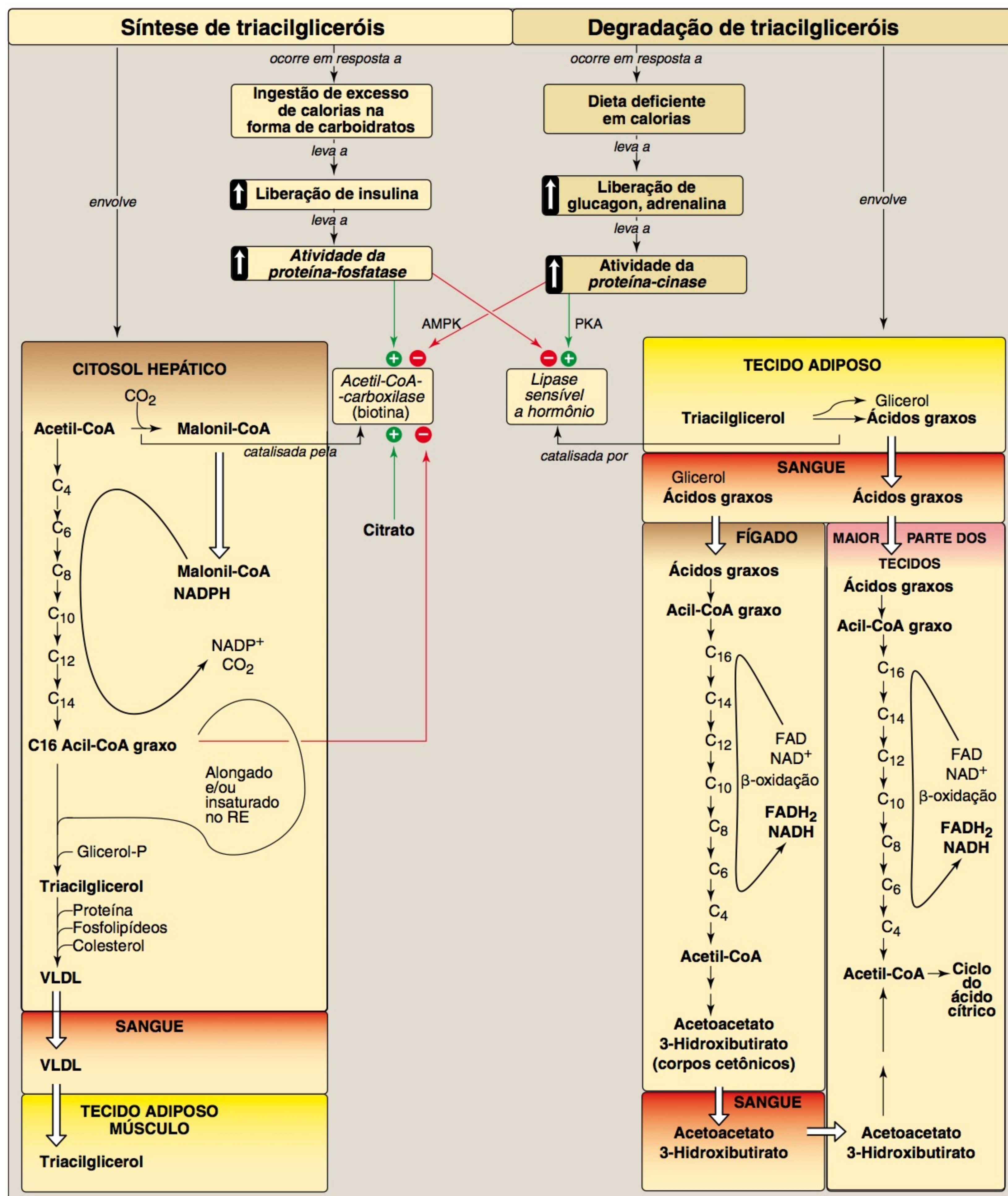


Figura 16.25

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo dos ácidos graxos e dos triacilgliceróis.

- C. O glicerol produzido pela degradação de triacilgliceróis é uma importante e direta fonte de energia para adipócitos e fibroblastos.
- D. A lipase sensível a hormônio é fosforilada e ativada pela proteína-cinase dependente de AMPc.

16.2 Níveis baixos de dióxido de carbono marcado com ^{14}C são liberados acidentalmente na atmosfera de uma área onde trabalhadores de uma indústria reiniciam o trabalho após o almoço. Desconhecendo o problema, os trabalhadores respiram o ar contaminado durante uma hora. Dos compostos abaixo, qual se encontrará marcado radioativamente?

- A. Todos os átomos de carbono dos ácidos graxos recentemente sintetizados.
- B. Cerca da metade dos átomos de carbono dos ácidos graxos recentemente sintetizados.
- C. A carboxila dos ácidos graxos recentemente sintetizados.
- D. Cerca de um terço dos átomos de carbono da malonil-CoA recentemente sintetizada.
- E. Metade dos carbonos da acetil-CoA recentemente sintetizada.

16.3 Um adolescente, preocupado com seu peso, resolveu fazer uma dieta livre de gordura por diversas semanas. Se a sua capacidade de sintetizar vários lipídeos fosse examinada, quais compostos apresentariam maior deficiência em sua síntese?

- A. Triacilgliceróis.
- B. Fosfolipídeos.
- C. Colesterol.
- D. Esfingolipídeos.
- E. Prostaglandinas.

16.4 Um menino de 6 meses de idade foi hospitalizado após uma crise convulsiva. A história revela que vários dias antes seu apetite havia diminuído devido a uma "estomatite viral". Na admissão, sua glicose sanguínea era de 24 mg/dL (normal nessa idade é de 60-100). Sua urina apresentava teste negativo para corpos cetônicos, mas positivo para uma variedade de ácidos dicarboxílicos. Numa tentativa de diagnóstico, foi realizado um teste para verificar deficiência da acil-CoA-desidrogenase dos ácidos graxos de cadeia média (DAGCM). Em pacientes com deficiência na DAGCM, a hipoglicemia no jejum é uma consequência de:

- A. Diminuição na produção de acetil-CoA.
- B. Diminuída capacidade de converter acetil-CoA em glicose.
- C. Aumentada conversão de acetil-CoA em acetoacetato.
- D. Aumento na produção de ATP e NADH.

16.5 Explique por que na síndrome de Zellweger se acumulam ácidos graxos de cadeia muito longa (AGCML) e ácido fitânico, enquanto na adrenoleucodistrofia ligada ao X (ALD-X) se acumulam somente AGCML.

Resposta correta = D. O malonil-CoA (três carbonos) é sintetizado a partir de acetil-CoA (dois carbonos) pela adição de CO_2 , usando a enzima acetil-CoA-carboxilase. Já que o CO_2 é removido posteriormente, durante a síntese de ácidos graxos, a marcação radioativa não aparecerá em qualquer posição dos ácidos graxos recentemente sintetizados.

Resposta correta = E. As prostaglandinas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico. O ácido araquidônico é sintetizado a partir do ácido linoleico, ácido graxo essencial obtido pelos humanos a partir dos lipídeos da dieta. O adolescente seria capaz de sintetizar todos os demais compostos, mas provavelmente em quantidade diminuída.

Resposta correta = A. A dificuldade em oxidar ácidos graxos com menos de 12 carbonos resulta numa produção diminuída de acetil-CoA, o ativador alostérico da piruvato-carboxilase, uma enzima da gliconeogênese; assim, os níveis de glicose caem. A acetil-CoA não pode ser usada para a síntese líquida de glicose. Acetoacetato é um corpo cetônico, e com uma deficiência na DAGCM, a cetogênese está diminuída. Um prejuízo na oxidação dos ácidos graxos significa que menos ATP e NADH são produzidos, e ambos são necessários para a gliconeogênese.

A síndrome de Zellweger é causada por uma incapacidade de direcionar proteínas da matriz aos peroxissomos; desse modo, todas as atividades peroxissomais são afetadas, pois não são formados peroxissomos funcionais. Na ALD-X, o defeito é a incapacidade de transportar AGCML para o peroxissomo – as demais funções peroxissomais, como a α -oxidação, são normais.

Metabolismo dos Lipídeos Complexos

17

I. VISÃO GERAL DOS FOSFOLIPÍDEOS

Os fosfolipídeos são compostos polares, iônicos, formados por um álcool unido por meio de uma ponte fosfodiéster ao diacilglicerol ou à esfingosina. Como os ácidos graxos, os fosfolipídeos são de natureza anfipática, isto é, têm uma cabeça hidrofílica (o grupo fosfato mais qualquer álcool ligado a ele, como, por exemplo, serina, etanolamina e colina, destacados em azul na Figura 17.1A) e uma longa cauda hidrofóbica (contendo ácidos graxos ou derivados, mostrados em laranja na Figura 17.1A). Os fosfolipídeos são os lipídeos predominantes nas membranas celulares. Nestas, a parte hidrofóbica dos fosfolipídeos está associada com as partes apolares de outros constituintes da membrana, como glicolipídeos, proteínas e colesterol. A cabeça hidrofílica (polar) dos fosfolipídeos estende-se para fora, interagindo com o ambiente aquoso intra ou extracelular (Figura 17.1A). Os fosfolipídeos da membrana também funcionam como reservatório de mensageiros intracelulares e, para algumas proteínas, servem como pontos de ancoramento às membranas celulares. Os fosfolipídeos não constituintes das membranas apresentam papéis adicionais no organismo; por exemplo, são surfactantes nos alvéolos pulmonares e componentes fundamentais da bile, onde suas propriedades detergentes ajudam na solubilização do colesterol.

II. ESTRUTURA DOS FOSFOLIPÍDEOS

Há duas classes de fosfolipídeos: aqueles que contêm glicerol como esqueleto carbonado e aqueles que contêm esfingosina. Ambas as classes são componentes estruturais de membranas e exercem papel na geração de derivados lipídicos envolvidos na sinalização.

A. Glicerofosfolipídeos

Os fosfolipídeos que contêm glicerol são chamados de glicerofosfolipídeos (ou fosfoglicerídeos). Os glicerofosfolipídeos constituem a maior clas-

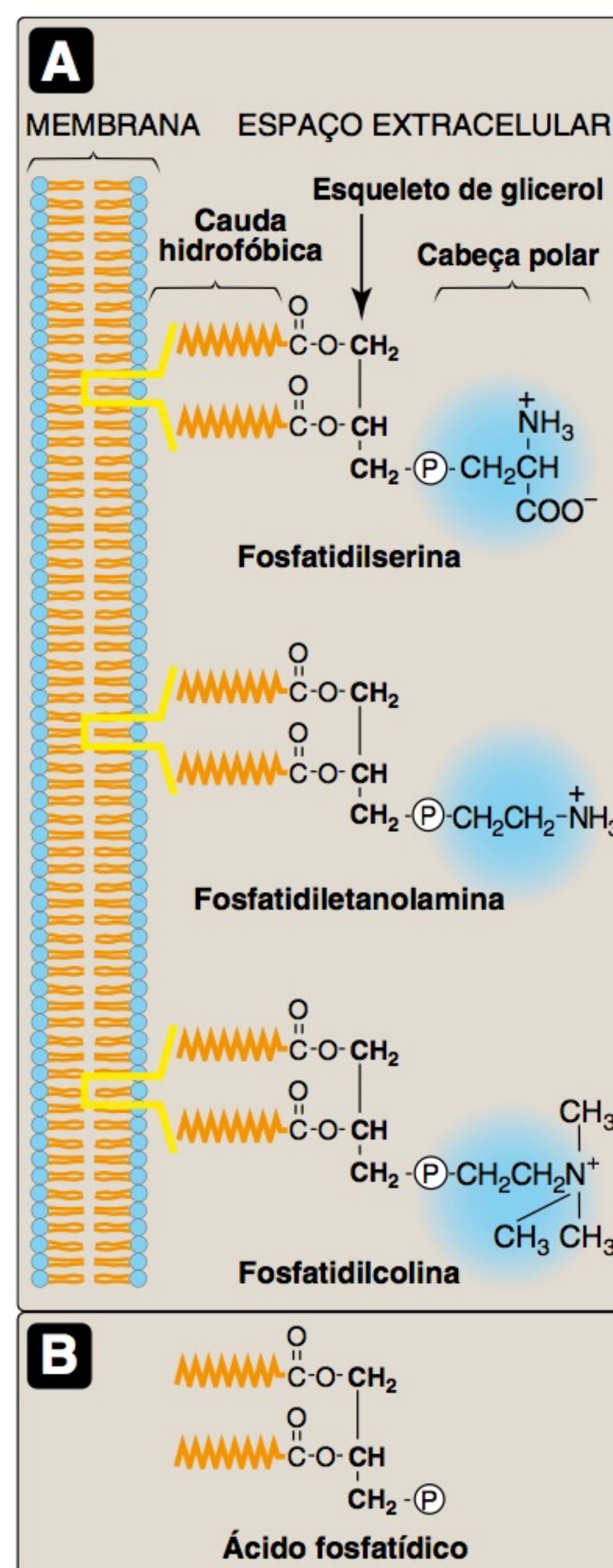


Figura 17.1

A. Estrutura de alguns glicerofosfolipídeos. B. Ácido fosfatídico. P^- = fosfato, PO_4^{1-} .

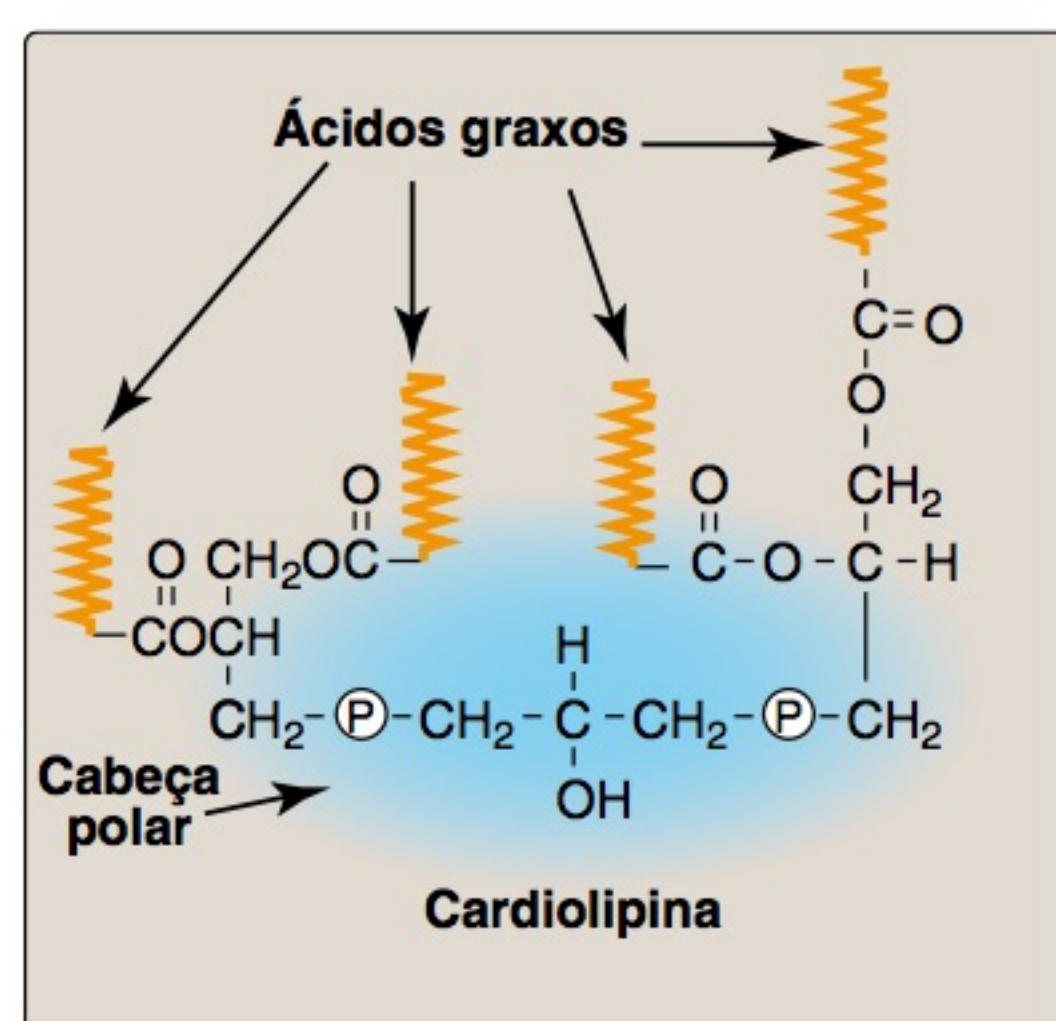


Figura 17.2
Estrutura da cardiolipina.

se de fosfolipídeos. Todos contêm (ou são derivados do) ácido fosfatídico (diacilglicerol, com um fosfato ligado à hidroxila do terceiro carbono do glicerol, Figura 17.1B). O ácido fosfatídico é o fosfoglicerídeo mais simples e é precursor dos demais membros do grupo.

1. Os glicerofosfolipídeos são formados por ácido fosfatídico (AF) e um álcool. O grupo fosfato do AF pode ser esterificado a outro composto contendo um grupo hidroxila (Figura 17.1). Por exemplo:

Serina	+	AF	→	Fosfatidilserina
Etanolamina	+	AF	→	Fosfatidiletanolamina (cefalina)
Colina	+	AF	→	Fosfatidilcolina (lecitina)
Inositol	+	AF	→	Fosfatidilinositol
Glicerol	+	AF	→	Fosfatidilglicerol

2. **Cardiolipina.** A cardiolipina é composta por duas moléculas de ácido fosfatídico, esterificadas por meio de seus grupos fosfato a outra molécula de glicerol (difosfatidilglicerol, Figura 17.2). É encontrada em bactérias e em eucariotos. Nestes, a cardiolipina é encontrada praticamente apenas na membrana mitocondrial interna, onde parece ser necessária para a manutenção de certos complexos respiratórios da cadeia transportadora de elétrons. (Nota: a cardiolipina é antigênica e reconhecida por anticorpos produzidos contra o *Treponema pallidum*, o agente etiológico da sífilis.)

3. **Plasmalogênios.** Quando um ácido graxo esterificado ao carbono 1 de um glicerofosfolipídeo é substituído por um grupo alquila insaturado, formando um ligação éter (em vez de éster) com a molécula de glicerol, temos um plasmalogênio. Por exemplo, a fosfatidaletanolamina (abundante no tecido nervoso, Figura 17.3A) é o plasmalogênio similar em estrutura à fosfatidiletanolamina. A fosfatidilcolina (abundante no tecido cardíaco) é outro lipídeo com ligação éter quantitativamente importante em mamíferos.

4. **Fator ativador de plaquetas (PAF, de platelet-activating factor).** O PAF é um glicerofosfolipídeo incomum que contém um grupo alquila saturado, unido por meio de uma ligação éter ao carbono 1, e que, em vez de um ácido graxo, apresenta uma acetila ligada ao carbono 2 do glicerol (Figura 17.3B). O PAF é sintetizado e liberado por vários tipos de células. Ele se liga a receptores de membrana, desencadeando potentes respostas trombóticas e eventos inflamatórios agudos. Por exemplo, o PAF ativa as células inflamatórias e medeia as reações de hipersensibilidade, as reações inflamatórias agudas e as reações anafiláticas. Ele induz a agregação de plaquetas e a liberação do conteúdo de seus grânulos (degranulação) e estimula a geração de radicais superóxido pelos neutrófilos e pelos macrófagos alveolares (veja a p. 148, onde é discutido o papel do superóxido na morte de bactérias). (Nota: o PAF é uma das moléculas bioativas mais potentes conhecidas, exercendo seus efeitos em concentrações tão baixas quanto 10^{-12} mol/L.)

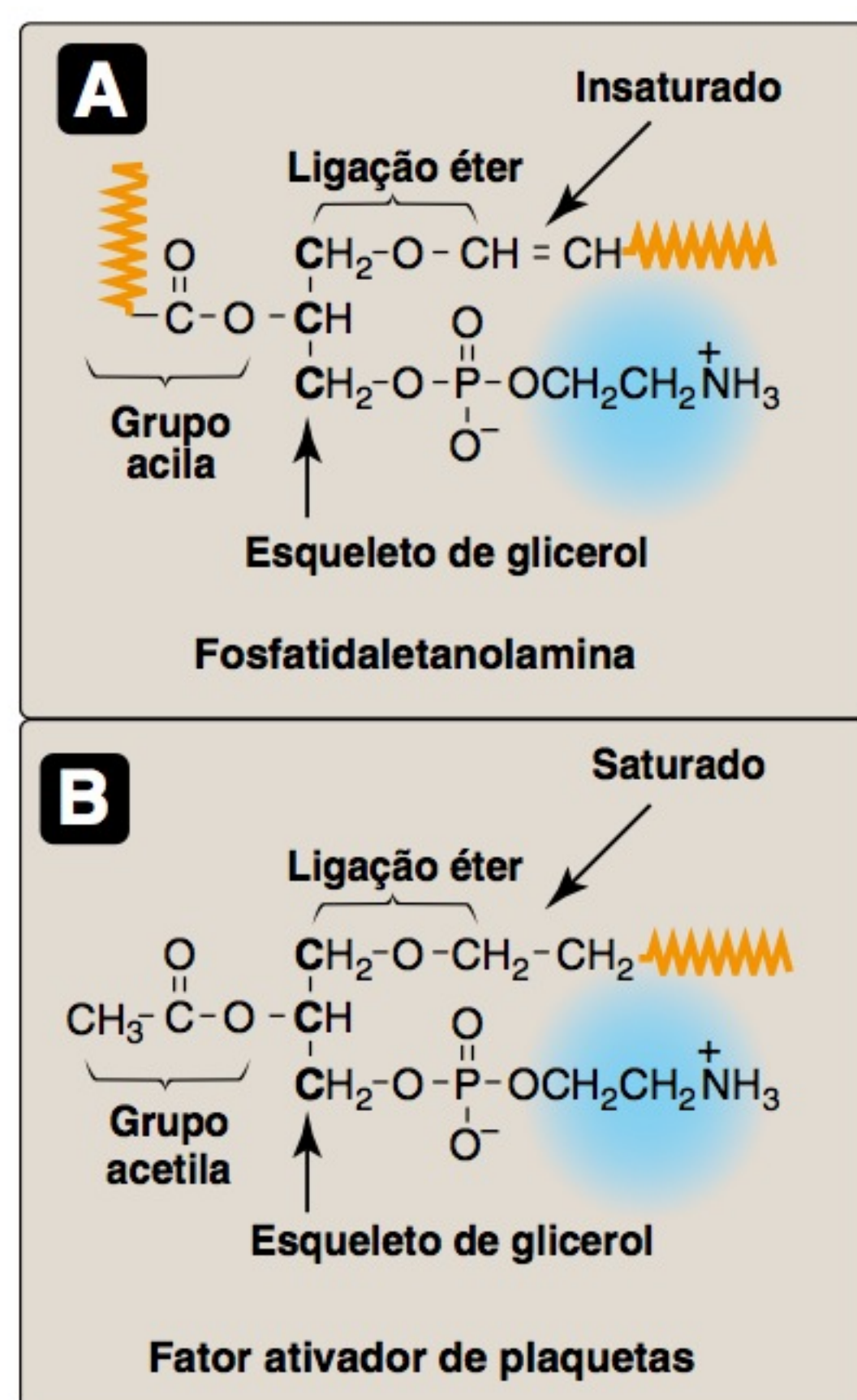


Figura 17.3
A. O plasmalogênio fosfatidaletanolamina. B. Fator ativador de plaquetas.

B. Esfingofosfolipídeos: a esfingomielina

O esqueleto da esfingomielina é a esfingosina, um álcool aminado, em vez do glicerol (Figura 17.4). Quando um ácido graxo de cadeia longa está ligado ao grupo amino da esfingosina por uma ligação amida, forma-se uma ceramida, que também pode servir como precursora dos glicolipídeos (veja a p. 209). Quando a hidroxila do carbono 1 da esfingosina está esterificada pela fosforilcolina, temos a esfingomielina.

na, o único esfingofosfolípídeo conhecido em quantidades significativas em humanos. A esfingomielina é um constituinte fundamental da bainha de mielina das fibras nervosas. (Nota: a bainha de mielina é uma estrutura membranosa em camadas que isola e protege os axônios neuronais.)

III. SÍNTESE DE FOSFOLIPÍDEOS

A síntese de glicerofosfolípídeos envolve a transferência de ácido fosfatídico do CDP-diacilglicerol para um álcool, ou a doação de um fosfomonoéster do álcool do CDP-álcool para o 1,2-diacilglicerol (Figura 17.5). (Nota: o CDP é o nucleotídeo difosfato de citidina – veja a p. 292.) Em ambos os casos, a estrutura ligada ao CDP é considerada um “intermediário ativado”, e o monofosfato de citidina (CMP) é liberado como produto colateral na rota de síntese dos glicerofosfolípídeos. Um conceito-chave na síntese de glicerofosfolípídeos, portanto, é a ativação, seja do diacilglicerol ou do álcool, pela ligação ao CDP. (Nota: isso é similar, em princípio, à ativação de açúcares por sua ligação ao difosfato de uridina [UDP] – veja a p. 126.) Os ácidos graxos esterificados aos grupos alcoólicos do glicerol podem variar amplamente, contribuindo para a heterogeneidade desse grupo de compostos. A maioria dos fosfolípídeos é sintetizada no retículo endoplasmático liso. Dali, são transferidos ao aparelho de Golgi e então às membranas de organelas ou à membrana plasmática, ou secretados da célula por exocitose. (Nota: a formação da ligação éter em lipídeos ocorre nos peroxissomos).

A. Síntese do ácido fosfatídico (AF)

O AF é o precursor de muitos outros fosfolípídeos. Os passos de sua síntese a partir do glicerol-fosfato e de dois acil-coenzima A (CoA) estão ilustrados na Figura 16.14, p. 189, na qual o AF é mostrado como precursor do triacilglicerol.

Basicamente, todas as células, com exceção dos eritrócitos maduros, sintetizam fosfolípídeos, enquanto a síntese de triacilgliceróis ocorre basicamente apenas no fígado, no tecido adiposo, na glândula mamária em lactação e nas células da mucosa intestinal.

B. Síntese de fosfatidiletanolamina (PE) e de fosfatidilcolina (PC)

A PC e a PE são os fosfolípídeos mais abundantes na maioria das células de eucariotos. A principal rota de síntese usa colina ou etanolamina, obtidas tanto da dieta quanto do reaproveitamento dos fosfolípídeos. (Nota: no fígado, a fosfatidilcolina também pode ser sintetizada a partir da fosfatidilserina (PS) ou da PE – veja a seguir.)

1. **Síntese de PE e de PC a partir de colina e etanolamina preexistentes.** Essas rotas de síntese envolvem a fosforilação da colina e da etanolamina por *cinases*, seguida pela conversão para a forma ativada, CDP-colina ou CDP-etanolamina. Por fim, a colina-fosfato ou a etanolamina-fosfato é transferida do nucleotídeo (liberando CMP) para uma molécula de diacilglicerol (Figura 17.5).

- a. **Importância da reutilização da colina.** A reutilização de colina é importante porque, apesar de os humanos serem ca-

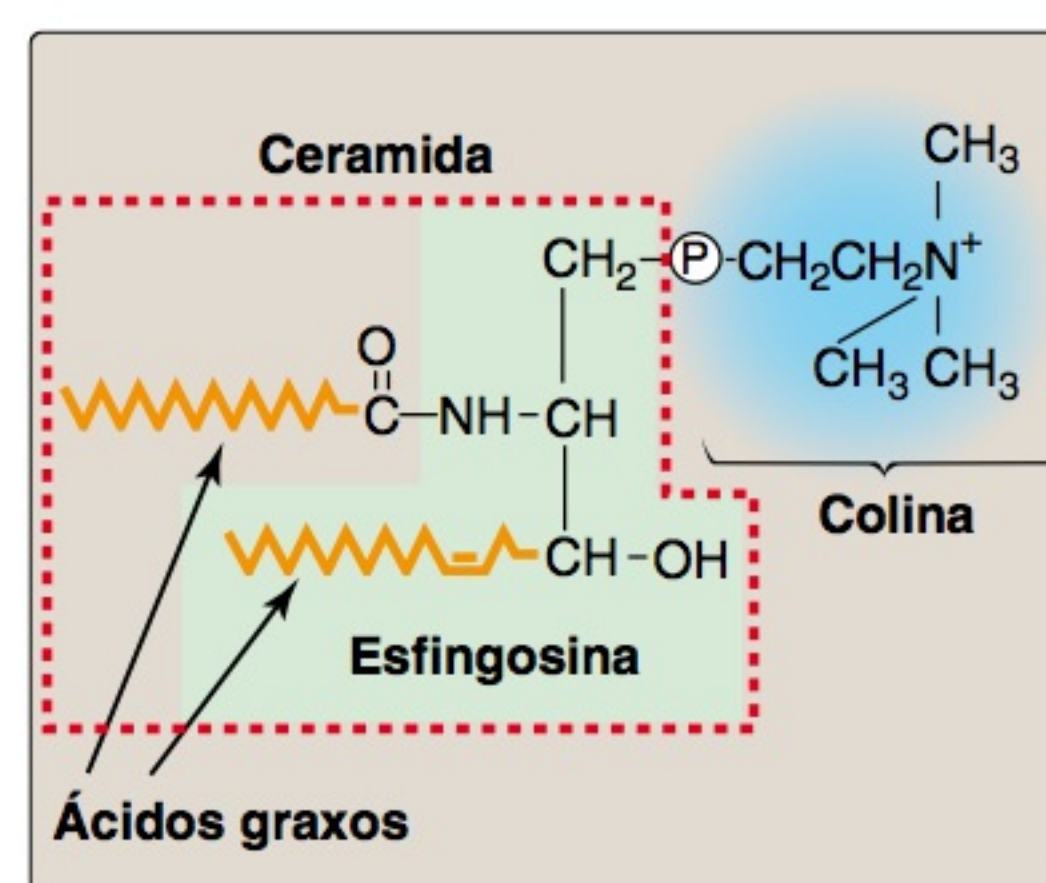


Figura 17.4

Estrutura da esfingomielina, mostrando os componentes esfingosina (na caixa verde) e ceramida (na caixa tracejada).

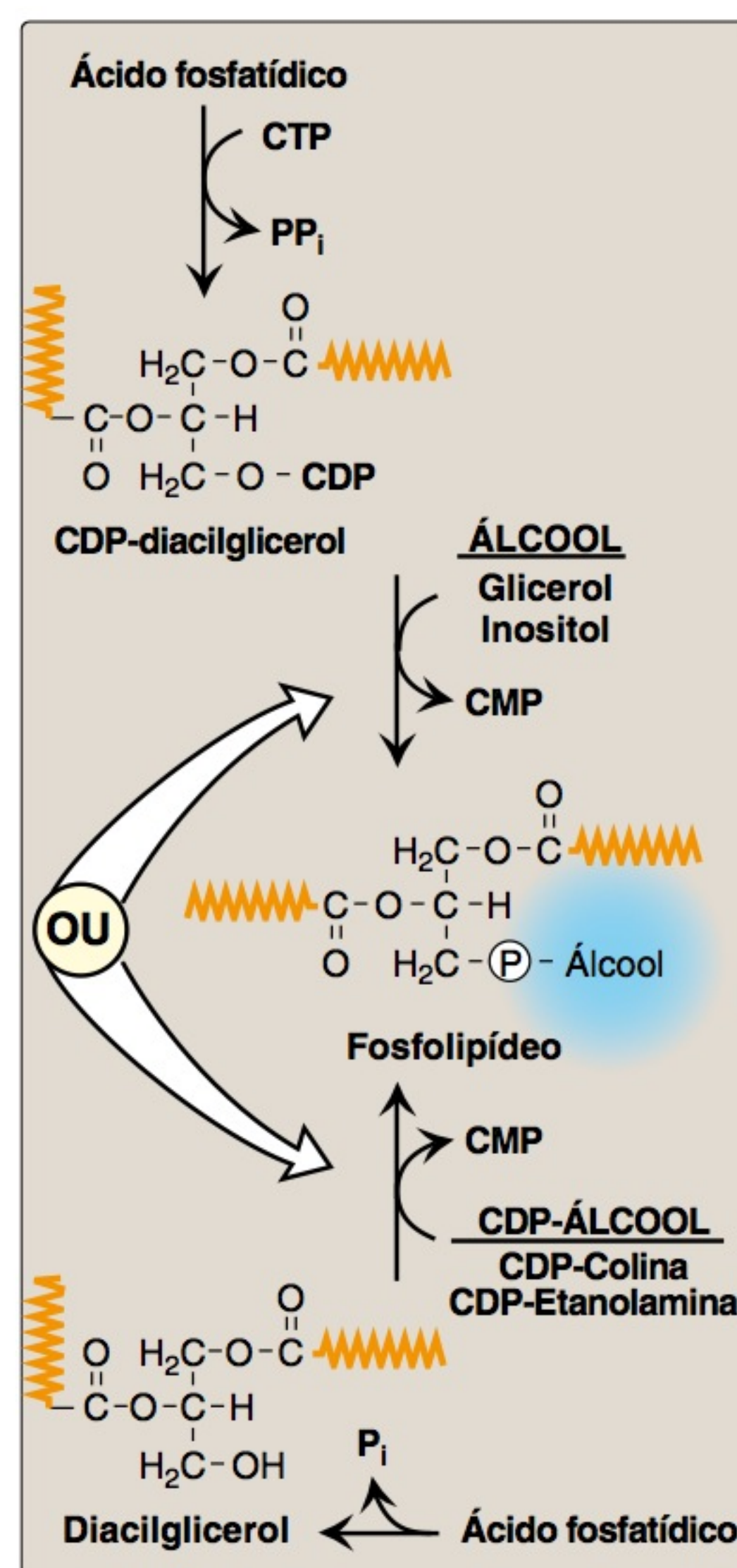


Figura 17.5

A ativação do diacilglicerol ou de um álcool, por meio de ligação a um nucleosídeo-difosfato (CDP), promove a síntese de fosfolípídeos.

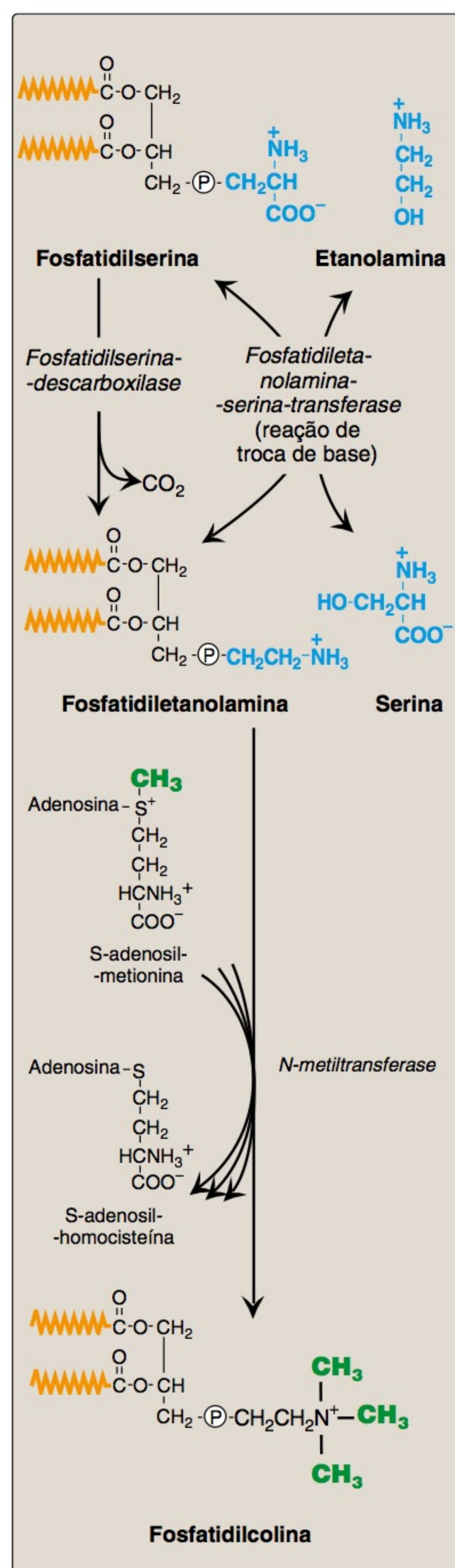


Figura 17.6

A síntese de fosfatidilcolina a partir da fosfatidilserina no fígado.

pazes de sintetizar colina *de novo*, a quantidade produzida é insuficiente para suas necessidades. Portanto, a colina é um nutriente essencial da dieta, sendo recomendada uma ingestão adequada (IA, veja a p. 358) de 550 mg para homens e 425 mg para mulheres. (Nota: a colina também é substrato na síntese do neurotransmissor acetilcolina.)

- b. Papel da PC como surfactante pulmonar.** A via descrita anteriormente é a principal rota de síntese de dipalmitoil-fosfatidilcolina (DPPC, ou dipalmitoil-lecitina). Na dipalmitoil-lecitina, as posições 1 e 2 do glicerol são ocupadas por palmitato. Esse fosfolípido, produzido e secretado por pneumócitos do Tipo II, é o principal componente lipídico do surfactante pulmonar – uma camada de fluido extracelular que reveste os alvéolos. O surfactante serve para reduzir a tensão superficial dessa camada fluida, reduzindo a pressão necessária para inflar e, portanto, impedindo o colapso alveolar (atelectasia). (Nota: o surfactante é uma mistura complexa de lipídeos [90%] e de proteínas [10%], sendo a dipalmitoil-lecitina o principal agente redutor da tensão superficial.) A síndrome da angústia respiratória (SAR) em recém-nascidos prematuros está associada à produção e/ou secreção insuficientes de surfactante e é uma causa importante de óbito neonatal nos países ocidentais.

A maturidade pulmonar no feto pode ser avaliada determinando-se a razão dipalmitoil-lecitina/esfingomielina, comumente descrita como L/E (L de lecitina e E de esfingomielina), no líquido amniótico. A razão L/E igual ou maior que dois indica maturidade, porque reflete o maior desvio para a síntese de dipalmitoil-lecitina em vez de esfingomielina, que ocorre nos pneumócitos ao redor da 32ª semana de gestação.

A maturação pulmonar pode ser acelerada pela administração de glicocorticoides à gestante logo antes do parto. A administração (intratraqueal) de surfactantes naturais ou sintéticos também é usada para prevenção e tratamento da SAR em bebês. Essa síndrome também pode ocorrer em adultos que tiveram os pneumócitos produtores de surfactante lesados ou destruídos, como por exemplo em resultado de infecção ou trauma.

- 2. Síntese de fosfatidilcolina (PC) a partir de fosfatidilserina (PS) no fígado.** O fígado requer um mecanismo produtor de PC, mesmo quando os níveis de colina livre são baixos, porque ele exporta uma quantidade significativa de PC, seja na bile, seja como componente das lipoproteínas plasmáticas. Para prover essa necessidade de PC, a PS é descarboxilada em fosfatidiletanolamina por uma *fosfatidilserina-decarboxilase*, que requer piridoxalfosfato como coenzima. A fosfatidiletanolamina sofre então três reações de metilação, produzindo PC, como ilustrado na Figura 17.6. A S-adenosilmetionina (SAM) é a doadora de grupos metila (veja a p. 264).

C. Fosfatidilserina (PS)

A principal rota para a síntese de PS nos tecidos de mamíferos envolve uma reação de troca das bases, na qual a etanolamina da fosfatidiletanolamina é trocada por serina livre (Figura 17.6). Essa reação, embora reversível, é usada principalmente para produzir PS, necessária para a síntese de membranas.

D. Fosfatidilinositol (PI)

O fosfatidilinositol é sintetizado a partir de inositol livre e de CDP-diacilglicerol, como mostrado na Figura 17.5. O PI é um fosfolípido incomum, que contém frequentemente ácido esteárico no carbono 1 e ácido araquidônico na posição 2 do glicerol. O PI, portanto, serve como reservatório de ácido araquidônico na membrana e, conseqüentemente, fornece o substrato para a síntese de prostaglandinas quando necessário (veja a p. 213 para uma discussão acerca desses compostos).

1. **O papel do PI na transmissão de sinais através da membrana.** A fosforilação do fosfatidilinositol componente da membrana produz fosfoinosítídeos, como, por exemplo, o fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂, ver a Figura 17.7). A degradação do PIP₂ pela *fosfolipase C* ocorre em resposta à ligação de uma série de neurotransmissores, hormônios e fatores de crescimento a receptores na membrana plasmática (Figura 17.8). Os produtos dessa degradação são o inositol 1,4,5-trisfosfato (IP₃) e o diacilglicerol (DAG), que medeiam, respectivamente, a mobilização do cálcio intracelular e a ativação da *proteína-cinase C*, que agem sinergicamente para evo-

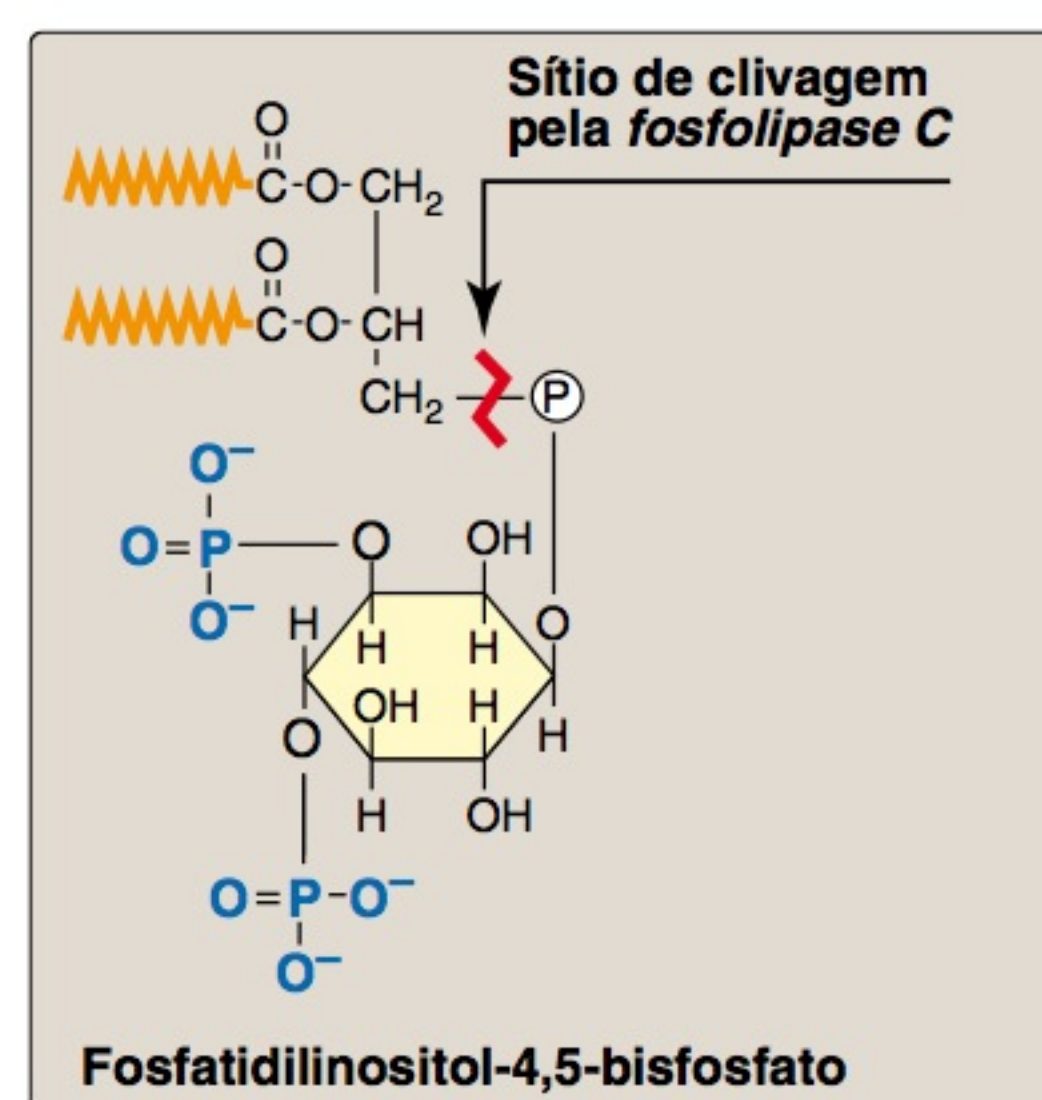


Figura 17.7

Estrutura do fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂). A clivagem pela *fosfolipase C* produz IP₃ e DAG.

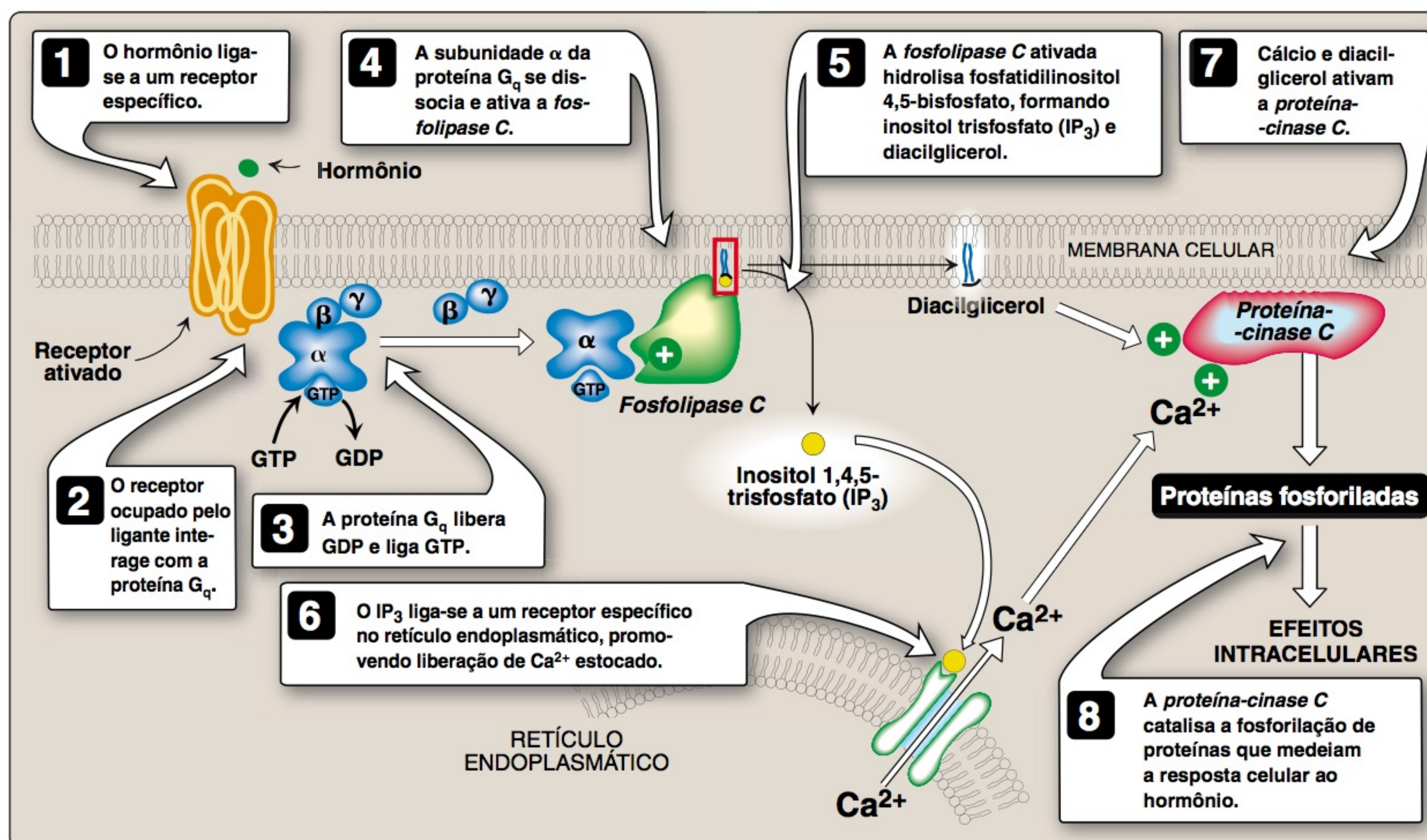


Figura 17.8

Papel do inositol trisfosfato e do diacilglicerol na sinalização intracelular.

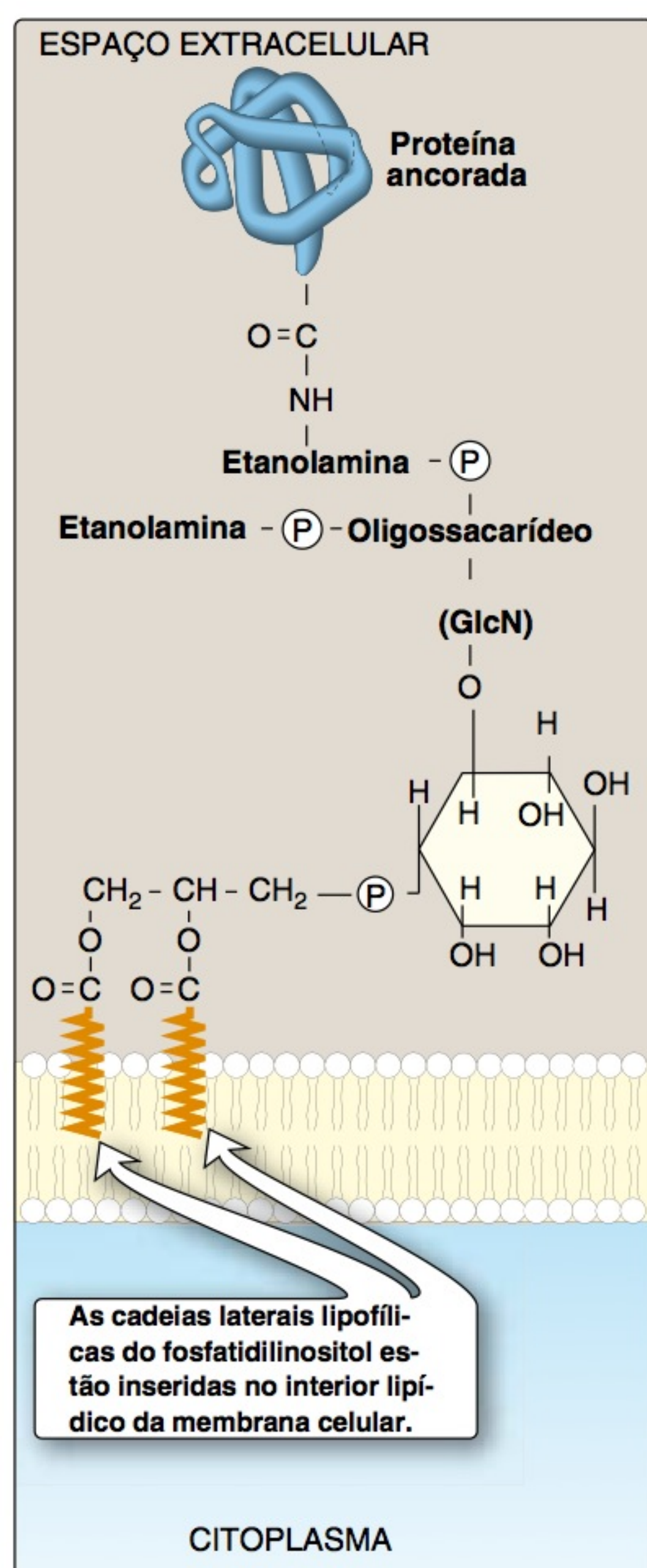


Figura 17.9

Exemplo de uma proteína ancorada a um glicosilfosfatidilinositol na membrana. GlcN = glicosamina.

car respostas celulares específicas. Assim é efetuada a transmissão de sinais através da membrana.

2. O papel do PI no ancoramento de proteínas à membrana. Proteínas específicas podem estar covalentemente ligadas ao PI de membrana por uma ponte de carboidrato (Figura 17.9). (Nota: exemplos de tais proteínas incluem a *fosfatase-alcalina*, uma enzima digestiva que na superfície do intestino delgado degrada fosfatos orgânicos da dieta, e a *acetilcolinesterase*, uma enzima da membrana pós-sináptica que degrada o neurotransmissor acetilcolina. Proteínas da superfície celular ligadas ao glicosilfosfatidilinositol [GPI] são encontradas também em uma variedade de protozoários parasitas – por exemplo, tripanossomos e leishmania.) O fato de estarem associadas a um lipídeo de membrana (em vez de integrarem a membrana) permite às proteínas ancoradas ao GPI maior mobilidade lateral na superfície celular. As proteínas podem ser removidas de suas âncoras por ação da *fosfolipase C* (Figura 17.8), liberando diacilglicerol. (Nota: uma deficiência na síntese de GPI em células hematopoiéticas resulta em uma anemia hemolítica, denominada hemoglobinúria noturna paroxística.)

E. Fosfatidilglicerol e cardiolipina

O fosfatidilglicerol, precursor da cardiolipina, está presente em quantidades relativamente grandes nas membranas mitocondriais. Ele é sintetizado em duas reações a partir do CDP-diacilglicerol e do glicerol-3-fosfato. A cardiolipina (difosfatidilglicerol, veja a Figura 17.2) é composta de duas moléculas de ácido fosfatídico conectadas por uma molécula de glicerol. Ela é sintetizada pela transferência de diacilglicerolfosfato do CDP-diacilglicerol para uma molécula preexistente de fosfatidilglicerol.

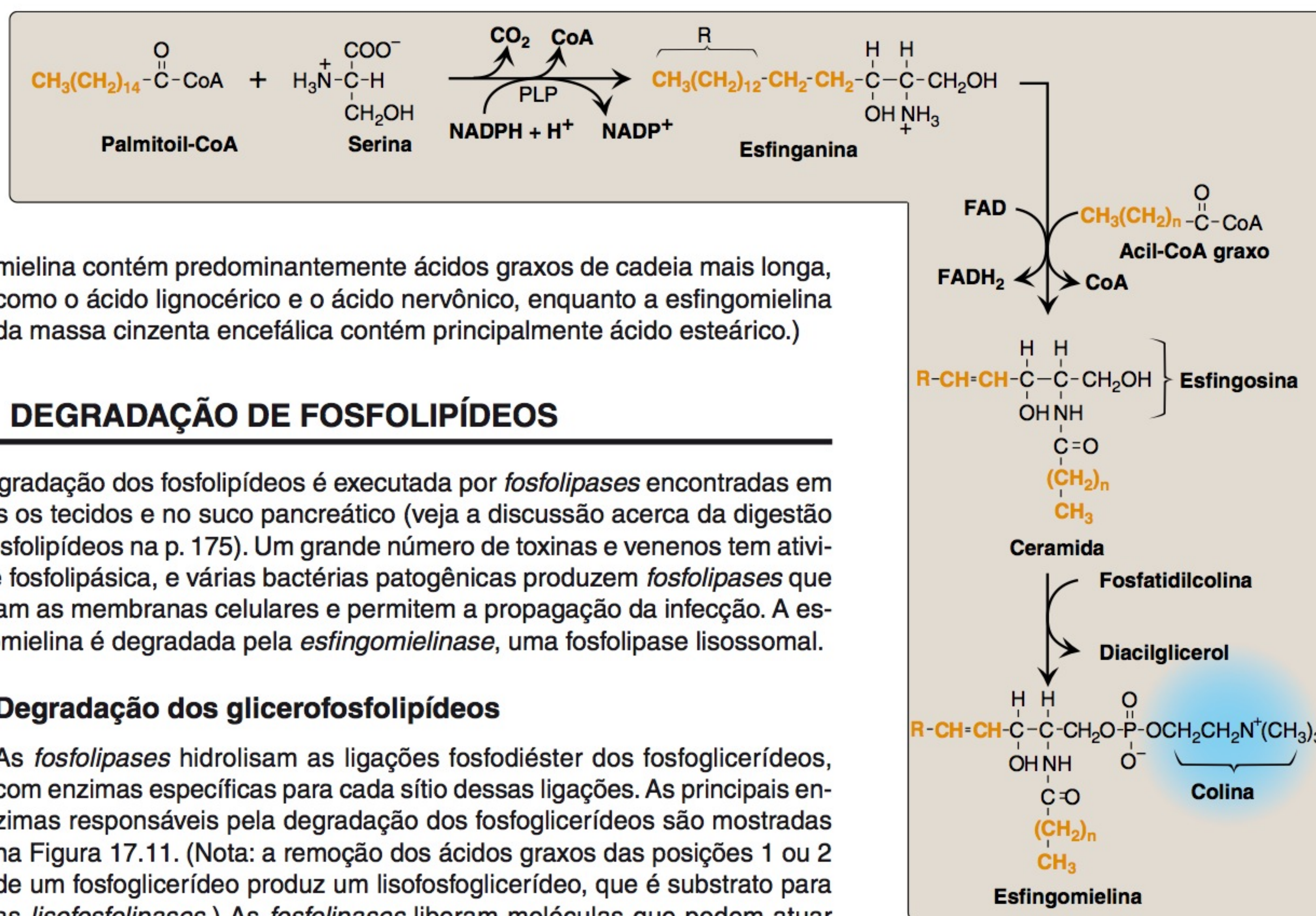
F. Esfingomielina

A esfingomielina, um fosfolípídeo derivado da esfingosina, é um importante lipídeo estrutural em membranas do tecido nervoso. A síntese de esfingomielina é mostrada na Figura 17.10. Resumidamente, uma molécula de palmitoil-CoA condensa-se com a serina, liberando coenzima A e o grupo carboxila (como CO_2) da serina. (Nota: essa reação, como as reações de descarboxilação envolvendo a síntese de PE a partir de PS e de reguladores a partir de aminoácidos – por exemplo, a formação de catecolaminas a partir de tirosina [veja a p. 286] –, requer piridoxal fosfato, um derivado da vitamina B_6 , como coenzima – veja a p. 378.) O produto da fusão é reduzido, em uma reação dependente de NADPH, produzindo esfinganina, que é acilada no grupo amino por um ácido graxo entre uma variedade de ácidos graxos de cadeia longa e então dessaturada para produzir uma ceramida, o precursor imediato da esfingomielina.

11

Uma ceramida com um ácido graxo de 30 carbonos é um importante componente da pele, regulando sua permeabilidade à água.

A fosforilcolina da fosfatidilcolina é transferida para a ceramida, produzindo esfingomielina e diacilglicerol. (Nota: a esfingomielina da bainha de



mielina contém predominantemente ácidos graxos de cadeia mais longa, como o ácido lignocérico e o ácido nervônico, enquanto a esfingomielina da massa cinzenta encefálica contém principalmente ácido esteárico.)

IV. DEGRADAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS

A degradação dos fosfolipídeos é executada por *fosfolipases* encontradas em todos os tecidos e no suco pancreático (veja a discussão acerca da digestão de fosfolipídeos na p. 175). Um grande número de toxinas e venenos tem atividade fosfolipásica, e várias bactérias patogênicas produzem *fosfolipases* que atacam as membranas celulares e permitem a propagação da infecção. A esfingomielina é degradada pela *esfingomielinase*, uma fosfolipase lisossomal.

A. Degradação dos glicerofosfolipídeos

As *fosfolipases* hidrolisam as ligações fosfodiéster dos fosfoglicerídeos, com enzimas específicas para cada sítio dessas ligações. As principais enzimas responsáveis pela degradação dos fosfoglicerídeos são mostradas na Figura 17.11. (Nota: a remoção dos ácidos graxos das posições 1 ou 2 de um fosfoglicerídeo produz um lisofosfoglicerídeo, que é substrato para as *lisofosfolipases*.) As *fosfolipases* liberam moléculas que podem atuar como mensageiros (p. ex., DAG e IP_3) ou como substratos para a síntese de mensageiros (p. ex., o ácido araquidônico). (Nota: as *fosfolipases* são responsáveis não apenas pela degradação dos fosfolipídeos, mas também por seu “remodelamento”. Por exemplo, as *fosfolipases* A_1 e A_2 removem ácidos graxos específicos de fosfolipídeos da membrana, que podem ser substituídos por ácidos graxos alternativos por ação da *acil-CoA-transferase*. Esse mecanismo é utilizado como forma de criar um singular surfactante pulmonar, a DPPC [veja a p. 204] e de assegurar que o carbono 2 do PI [e às vezes da PC] esteja ligado ao ácido araquidônico.)

Figura 17.10

Síntese de esfingomielina. PLP = piridoxal-fosfato.

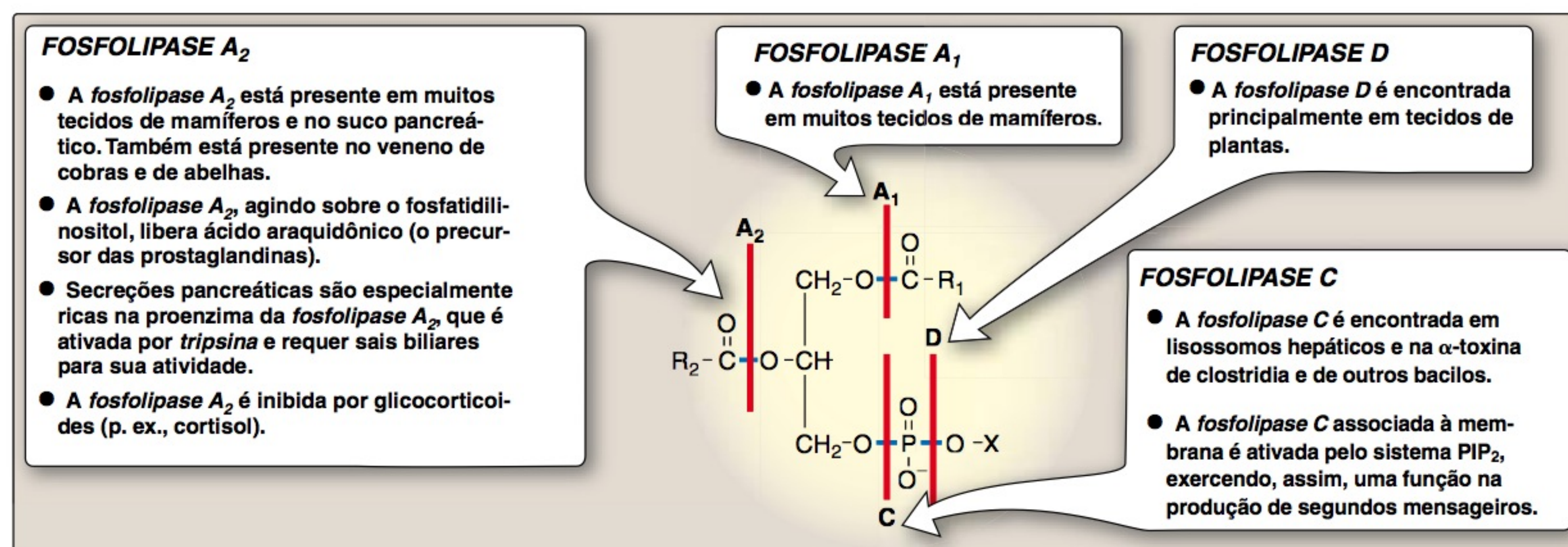
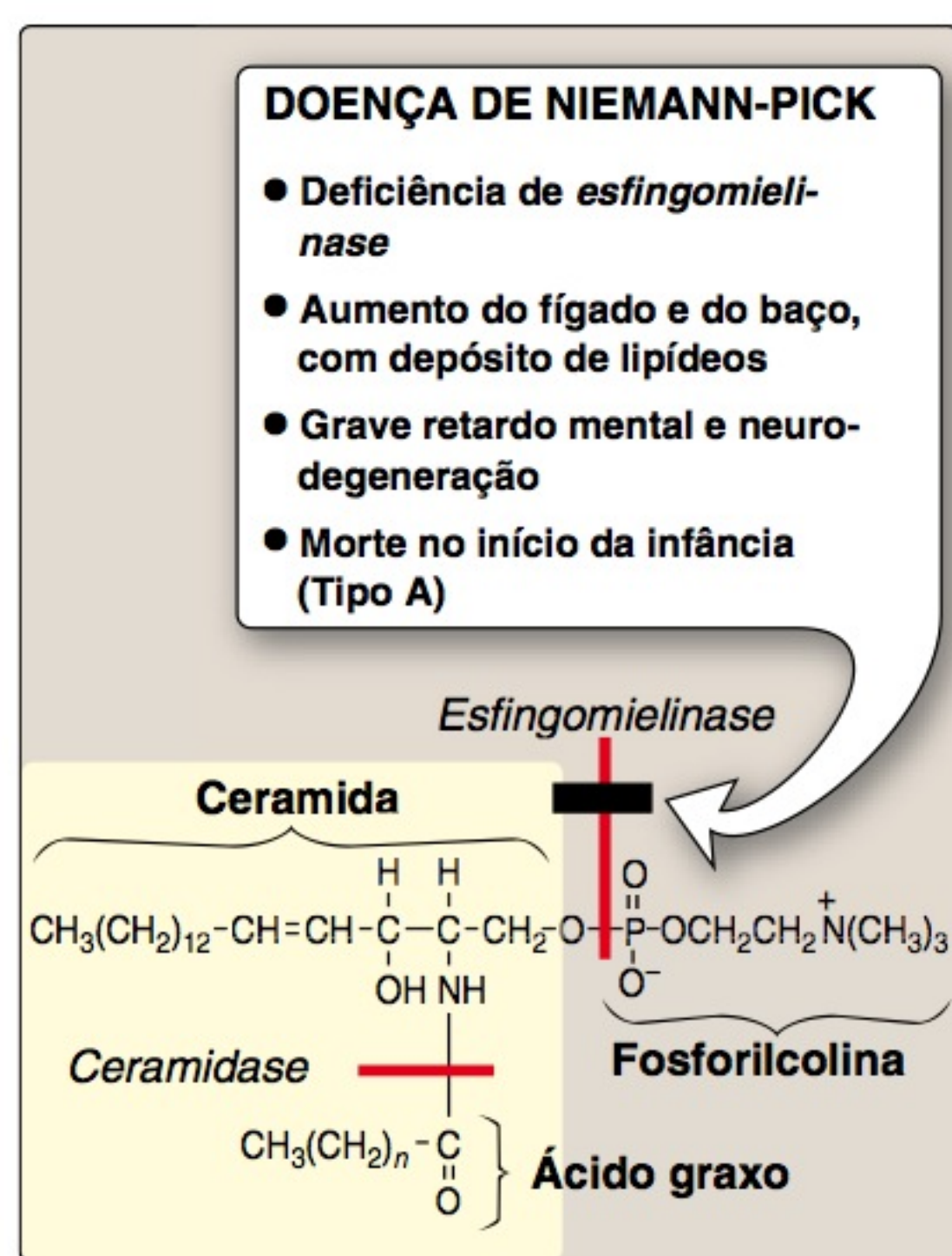
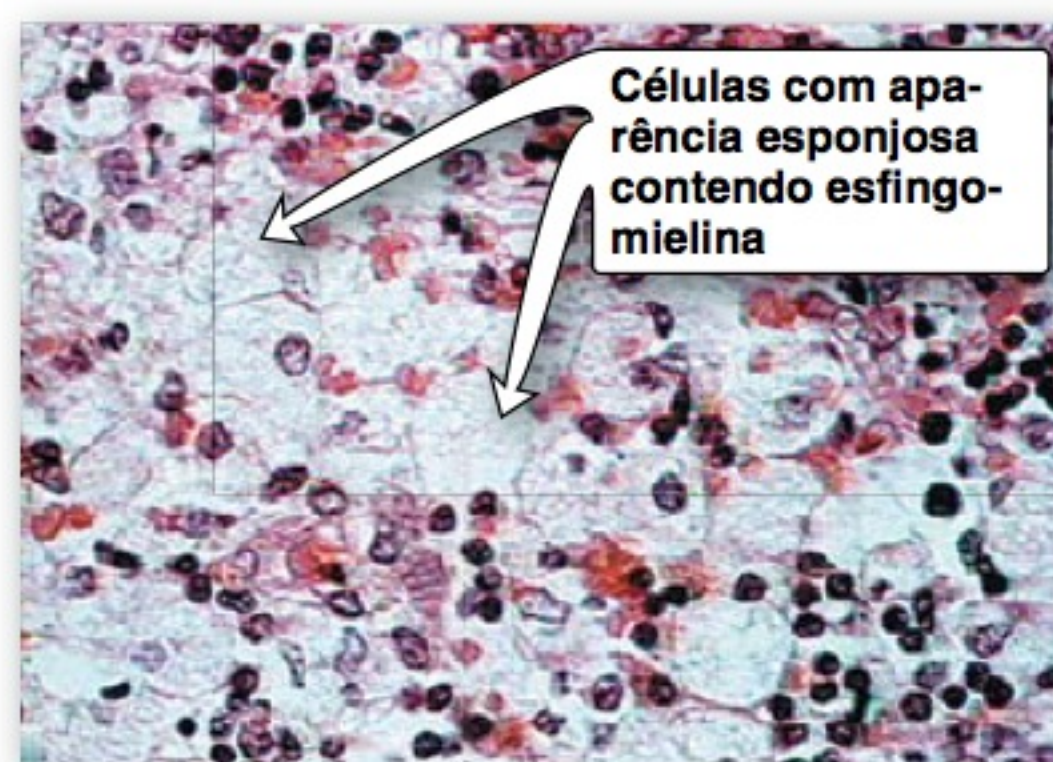


Figura 17.11

Degradação de glicerofosfolipídeos por fosfolipases.

**Figura 17.12**

Degradação da esfingomielina.

**Figura 17.13**

O acúmulo de lipídeos em células do baço de um paciente com a doença de Niemann-Pick.

B. Degradação de esfingomielina

A esfingomielina é degradada pela esfingomielinase, uma enzima lisossomal que remove a fosforilcolina por hidrólise, liberando a ceramida. A ceramida é, por sua vez, clivada pela ceramidase em esfingosina e ácido graxo livre (Figura 17.12). (Nota: a ceramida e a esfingosina liberadas regulam vias de transdução de sinal, em parte influenciando a atividade da proteína-quinase C e, assim, a fosforilação de seus substratos proteicos. Elas também promovem apoptose.) A doença de Niemann-Pick (tipos A e B) é uma doença autossômica recessiva causada pela incapacidade de degradar a esfingomielina. A enzima deficiente é a esfingomielinase, um tipo de fosfolipase C. Na forma infantil e grave da doença (tipo A – menos que 1% da atividade normal), o fígado e o baço são os principais locais de depósito desses lipídeos, e encontram-se bastante aumentados. Esses lipídeos consistem basicamente em esfingomielina que não pode ser degradada (Figura 17.13). Bebês com essa doença de armazenamento lisossomal apresentam uma neurodegeneração rápida e progressiva, como resultado da deposição da esfingomielina no sistema nervoso central, e morrem nos primeiros anos de vida. Uma forma menos grave da doença (tipo B – 5% ou mais) causa pouco ou nenhum dano ao tecido nervoso, mas afeta os pulmões, o fígado, o baço e a medula óssea, levando a uma forma crônica da doença, com expectativa de alcançar a vida adulta. Embora a doença de Niemann-Pick ocorra em todos os grupos étnicos, o tipo A ocorre com maior frequência na população de judeus Ashkenazi do que na população em geral.

V. VISÃO GERAL DOS GLICOLIPÍDEOS

Os glicolipídeos são moléculas que contêm carboidratos e lipídeos em sua composição. Assim como o fosfolipídeo esfingomielina, os glicolipídeos são derivados das ceramidas, em que um ácido graxo de cadeia longa está ligado ao aminoálcool esfingosina. Eles são, portanto, mais precisamente chamados de glicosfingolipídeos. (Nota: as ceramidas, portanto, são precursoras de ambos esfingolipídeos, fosforilados e glicosilados.) Assim como os fosfolipídeos, os glicosfingolipídeos são componentes fundamentais de todas as membranas do corpo, mas são encontrados em maiores quantidades no tecido nervoso. Estão localizados no folheto externo da membrana plasmática, onde podem interagir com o meio extracelular. Como tal, exercem papel na regulação das interações celulares, do crescimento e do desenvolvimento.



Quando as células são transformadas (i. e., quando perdem o controle da divisão e do crescimento celular), há uma mudança dramática na composição dos glicosfingolipídeos da membrana plasmática.

Os glicosfingolipídeos são antigênicos. Eles têm sido identificados como fontes de antígenos de grupos sanguíneos, antígenos de estágios específicos do desenvolvimento embrionário e fetal e certos antígenos tumorais. (Nota: a porção glicídica do glicolipídeo é o determinante antigênico.) Eles também servem como receptores na superfície celular para as toxinas colérica e tetânica, bem como para determinados vírus e micróbios. Doenças genéticas associadas a uma incapacidade para degradar adequadamente os glicosfingolipídeos resultam no acúmulo lisossomal desses compostos.

VI. A ESTRUTURA DOS GLICOESFINGOLIPÍDEOS

Os glicosfingolipídeos diferem da esfingomielina porque não contêm fosfato e porque a função de cabeça polar é exercida por um monossacarídeo ou um oligossacarídeo diretamente ligado à ceramida por uma ligação O-glicosídica (Figura 17.14). O número e o tipo de carboidratos ajudam a determinar o tipo de glicosfingolipídeo.

A. Glicosfingolipídeos neutros

Os mais simples glicosfingolipídeos neutros (i. e., sem carga elétrica) são os cerebrosídeos. Eles são ceramidas monossacarídicas com uma molécula de galactose (galactocerebrosídeo, o mais comum cerebrosídeo encontrado em membranas, veja a Figura 17.14) ou de glicose (glicocerebrosídeo, que serve principalmente como intermediário na síntese e na degradação de glicosfingolipídeos mais complexos). (Nota: os membros de um grupo de galactocerebrosídeos [ou de glicocerebrosídeos] também podem diferir entre si pelo tipo de ácido graxo ligado à esfingosina.) Como o nome indica, os cerebrosídeos são encontrados principalmente nos sistemas nervosos central e periférico, com altas concentrações na bainha de mielina. As ceramidas oligossacarídicas (globosídeos) são produzidas pela ligação de monossacarídeos adicionais (incluindo GalNAc) a um glicocerebrosídeo. Exemplos desses compostos incluem:

Cerebrosídeo (glicocerebrosídeo):	Cer-Glc
Globosídeo (lactosilceramida):	Cer-Glc-Gal
Globosídeo (antígeno de Forssman):	Cer-Glc-Gal-Gal-GalNAc-GalNAc
(Cer = ceramida, Glc = glicose, Gal = galactose, GalNAc = N-acetilgalactosamina)	

B. Glicosfingolipídeos ácidos

Os glicosfingolipídeos ácidos são carregados negativamente em pH fisiológico. A carga negativa deve-se à presença de ácido N-acetilneuramínico (NANA, ácido siálico, veja a Figura 17.15) nos gangliosídeos, ou de grupos sulfato nos sulfatídeos.

- 1. Gangliosídeos.** São os glicosfingolipídeos mais complexos, encontrados principalmente em células ganglionares do sistema nervoso, em especial nos terminais nervosos. São derivados de ceramidas oligossacarídicas e contêm uma ou mais moléculas de NANA. A nomenclatura para esses compostos é G (de gangliosídeo) seguido das letras M, D, T ou Q subscritas, indicando uma (mono), duas, três ou quatro moléculas de NANA no gangliosídeo, respectivamente. Números ou letras adicionais subscritos indicam a sequência dos carboidratos ligados à ceramida. (Veja a estrutura do G_{M2} na Figura 17.15.) Os gangliosídeos são de interesse para a área médica, pois várias doenças de armazenamento lipídico envolvem acúmulo de glicosfingolipídeos contendo NANA nas células (Figura 17.20, p. 212).
- 2. Sulfatídeos.** Os sulfoglicosfingolipídeos (sulfatídeos) são cerebrosídeos que contêm resíduos de galactosil sulfatados e, portanto, são negativamente carregados em pH fisiológico. Os sulfatídeos são encontrados predominantemente nos tecidos nervoso e renal.

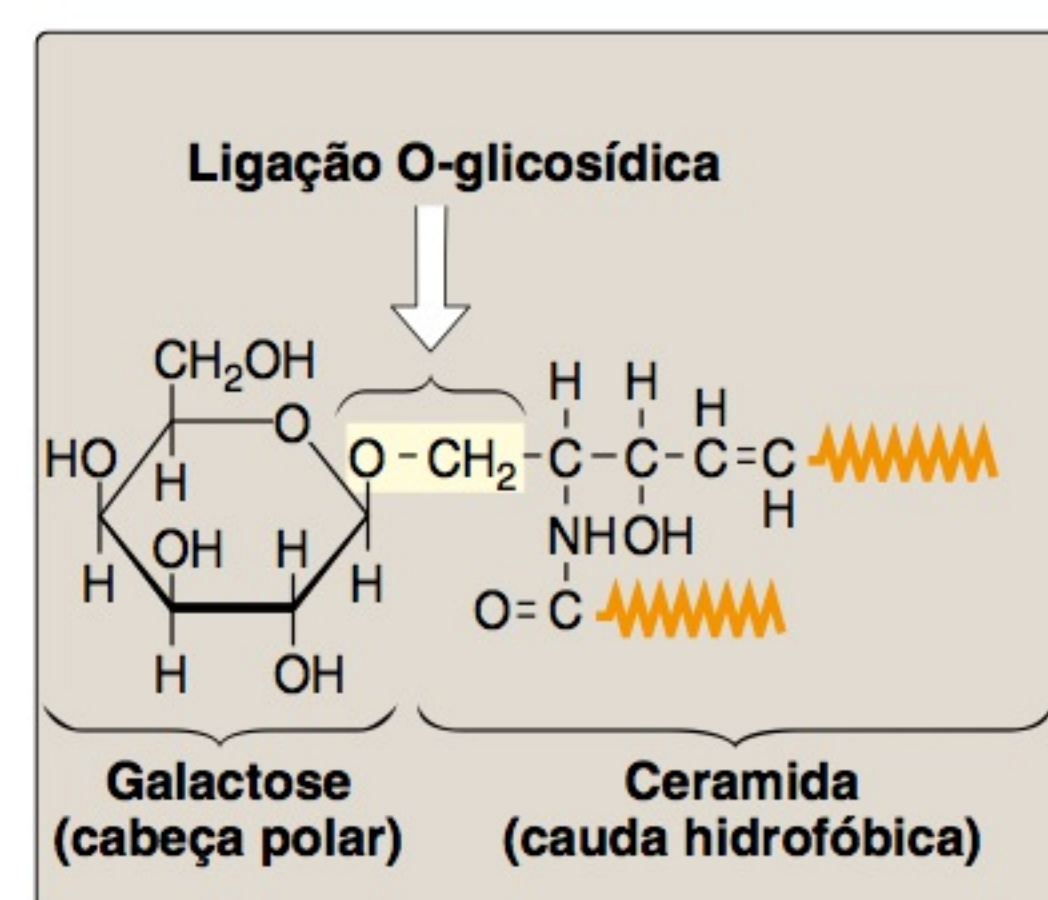


Figura 17.14

Estrutura de um glicosfingolipídeo neutro, um galactocerebrosídeo (~~~~~ é a cadeia hidrocarbonada de um ácido graxo).

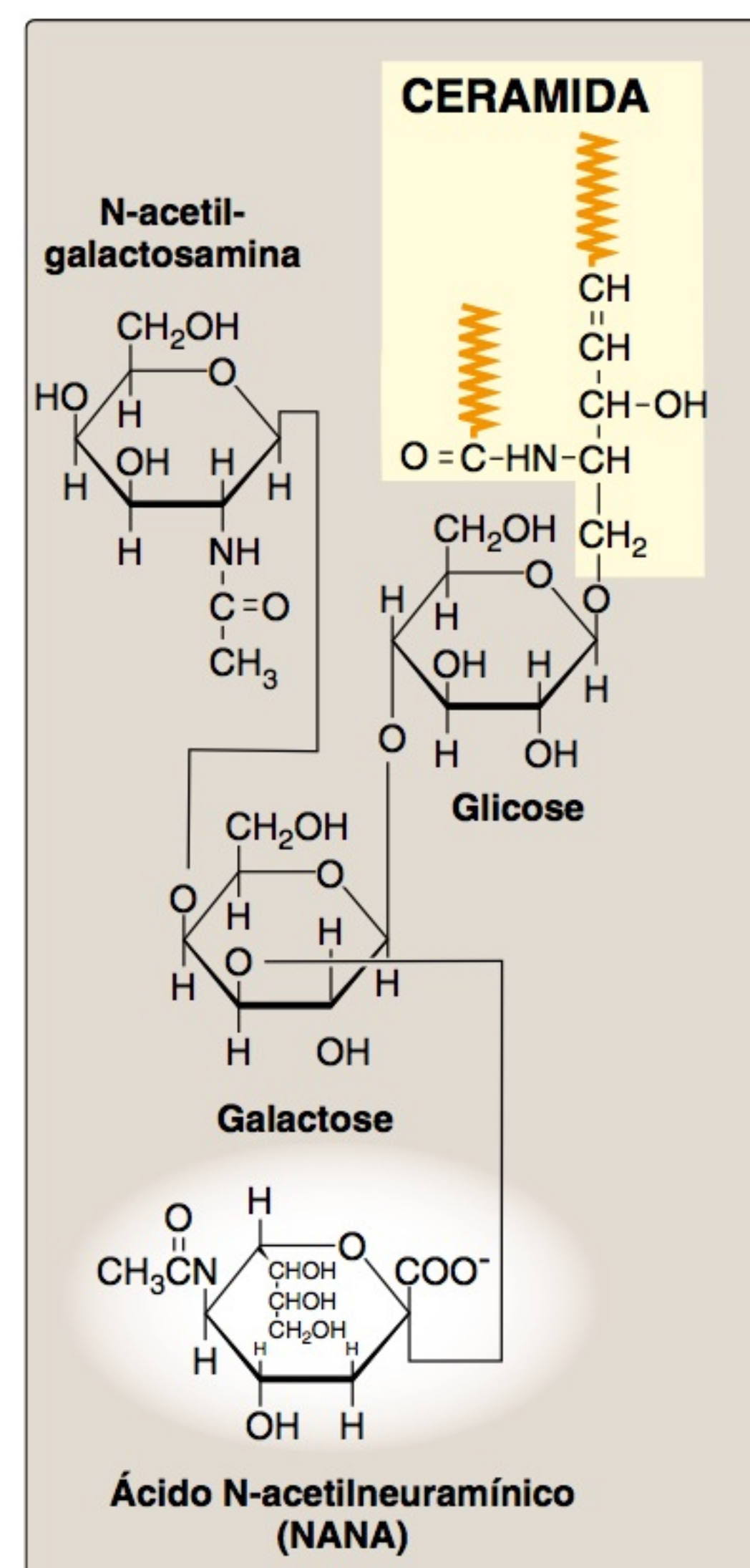
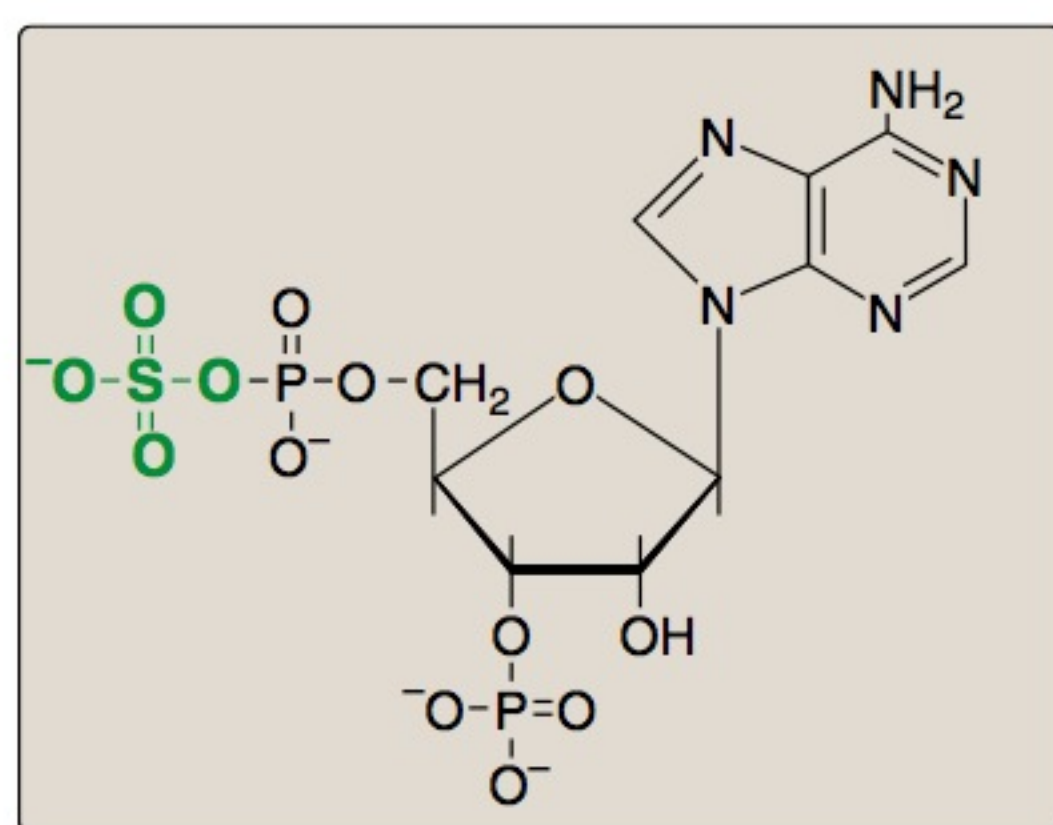


Figura 17.15

Estrutura do gangliosídeo G_{M2} .

**Figura 17.16**

Estrutura do 3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato (PAPS).

VII. SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DOS GLICOESFINGOLIPÍDEOS

A síntese dos glicosfingolipídeos ocorre principalmente no aparelho de Golgi, pela adição sequencial de monômeros glicosil transferidos do nucleotídeo doador ligado ao carboidrato (UDP-açúcar) para a molécula aceptora. O mecanismo é similar ao utilizado na síntese de glicoproteínas (veja a p. 166).

A. Enzimas envolvidas na síntese

As enzimas envolvidas na síntese de glicosfingolipídeos são *glicosil-transferases*, específicas para cada nucleotídeo-carboidrato (doador) e molécula aceptora. (Nota: essas enzimas podem reconhecer como substratos tanto os glicosfingolipídeos como as glicoproteínas.)

B. Adição de grupos sulfato

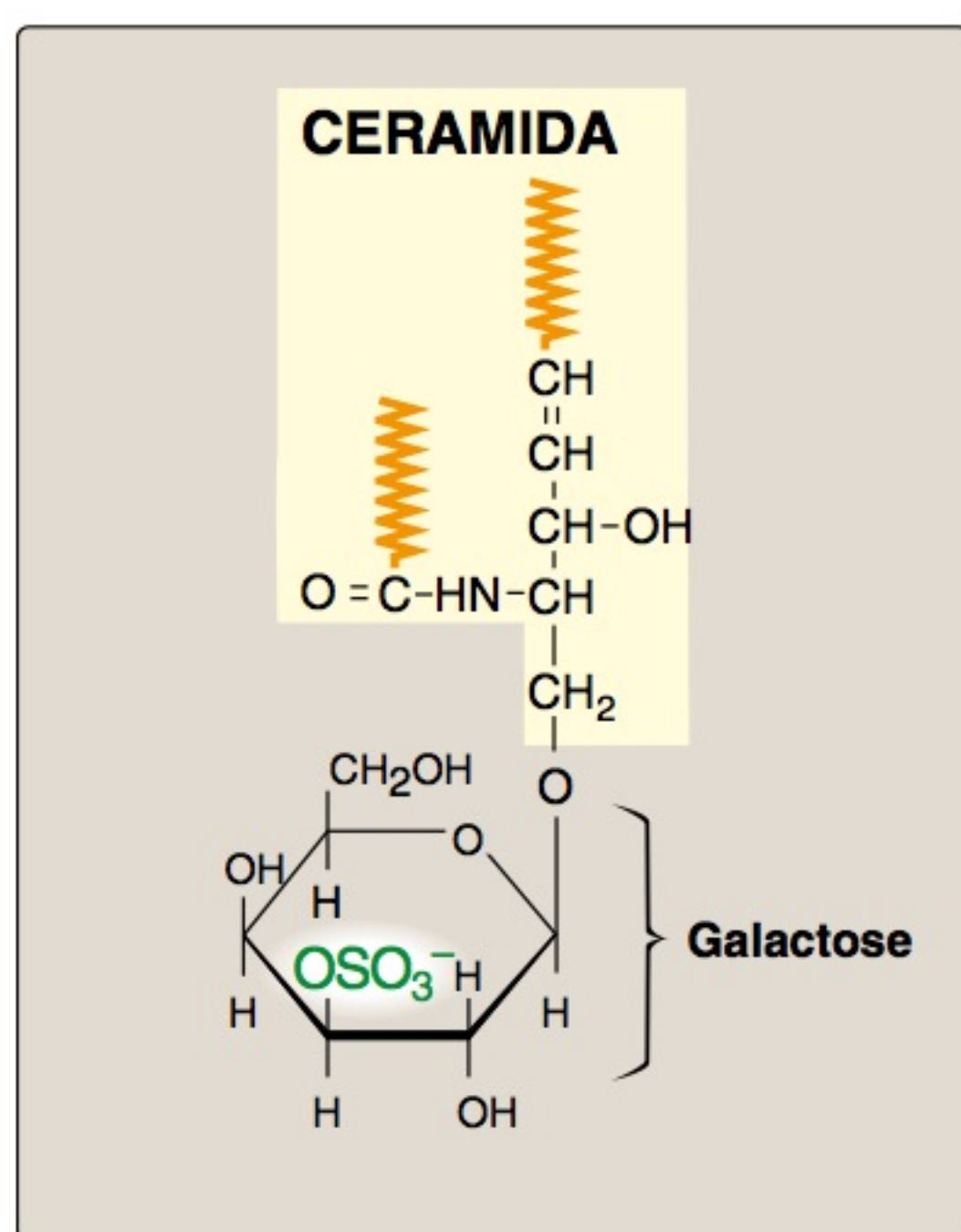
O grupo sulfato do carregador de sulfato, o 3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato (PAPS, Figura 17.16), é adicionado por uma *sulfotransferase* ao grupo 3'-hidroxila da galactose de um galactocerebrosídeo. O galactocerebrosídeo-3-sulfato é o principal sulfatídeo no sistema nervoso (Figura 17.17). (Nota: o PAPS é também um doador de sulfato na síntese de glicosamino-glicanos – veja a p. 162 – e no catabolismo de hormônios esteroides – veja a p. 240.) Uma visão geral da síntese de esfingolipídeos é mostrada na Figura 17.18.

C. Degradação de glicosfingolipídeos

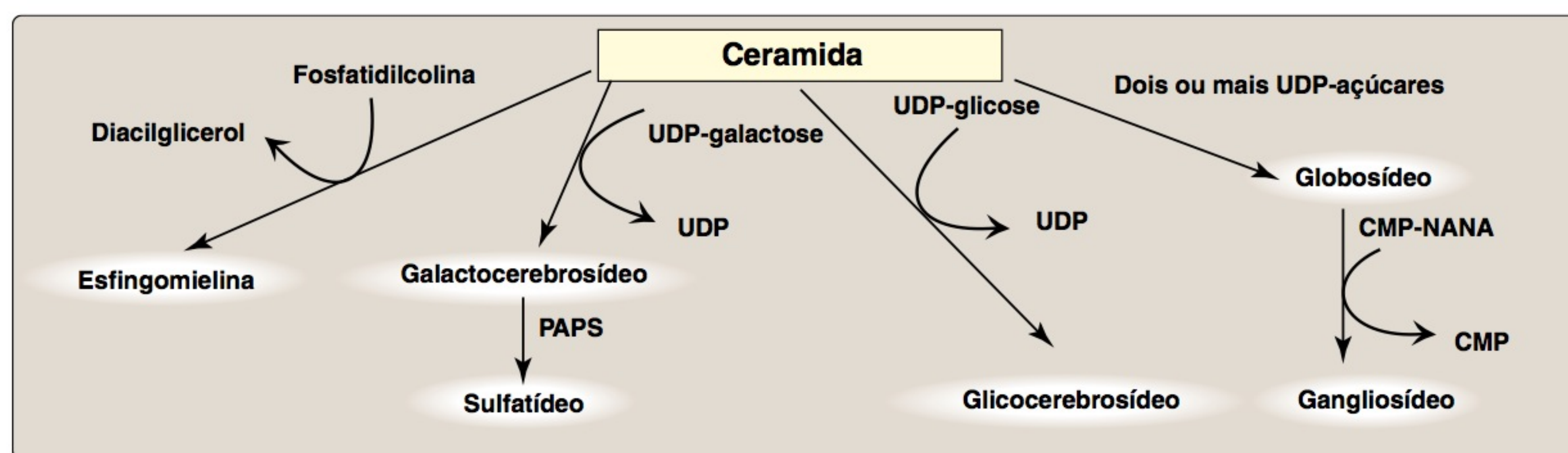
Os glicosfingolipídeos são internalizados por endocitose, como descrito para os glicosaminoglicanos. Todas as enzimas requeridas para o processo de degradação estão presentes nos lisossomos, que se fundem com as vesículas endocíticas. As enzimas lisossomais clivam, hidrolítica e irreversivelmente, ligações específicas nos glicosfingolipídeos. Como vimos para os glicosaminoglicanos (veja a p. 163) e para as glicoproteínas (veja a p. 170), a degradação é um processo sequencial, de acordo com a regra “último a entrar, primeiro a sair”, em que o último grupo adicionado durante a síntese é o primeiro a ser removido durante a degradação. (Nota: defeitos na degradação das cadeias polisacarídicas desses três glicoconjugados também resultam em doenças lisossomais de armazenamento.)

D. Esfingolipidoses

Em um indivíduo normal, a síntese e a degradação de glicosfingolipídeos está em equilíbrio, de modo que a quantidade desses compostos presentes nas membranas é constante. Se uma determinada *hidrolase* necessária ao processo de degradação é perdida parcial ou totalmente, o esfingolipídeo, seu substrato, acumula nos lisossomos. As doenças de armazenamento lipídico lisossomais causadas por essas deficiências são denominadas esfingolipidoses. A deficiência de uma determinada *hidrolase* tem efeito notável no tecido nervoso, onde a deterioração neurológica pode levar à morte prematura. (Nota: a renovação de gangliosídeos no SNC é ampla durante o desenvolvimento neonatal.) A Figura 17.20 mostra as linhas gerais das rotas de degradação dos esfingolipídeos e a descrição de algumas esfingolipidoses.

**Figura 17.17**

Estrutura do galactocerebrosídeo-3-sulfato.


Figura 17.18

Visão geral da síntese de esfingolipídeos.

- Propriedades comuns.** Uma *hidrolase* lisossomal específica está deficiente em cada uma dessas doenças. Portanto, em geral apenas um único esfingolipídeo (o substrato para a enzima deficiente) acumula-se nos órgãos envolvidos em cada doença. (Nota: a taxa de biossíntese do lipídeo acumulado é normal.) As doenças são progressivas e, embora muitas sejam fatais na infância, uma enorme variedade fenotípica tem sido observada, levando à classificação de diferentes tipos clínicos, como Tipos A e B para a doença de Niemann-Pick. A variabilidade genética é observada também porque uma determinada doença pode ser causada por uma variedade de mutações em um único gene. As esfingolipidoses são doenças autossômicas recessivas, com exceção da doença de Fabry, que é ligada ao cromossomo X. A incidência de esfingolipidoses é baixa na maioria das populações, exceto para as doenças de Gaucher e de Tay-Sachs, as quais, como a doença de Niemann-Pick, apresentam alta incidência na população de judeus Ashkenazi.
- Diagnóstico e tratamento.** Uma determinada esfingolipidose pode ser diagnosticada por meio da medição da atividade enzimática específica em cultura de fibroblastos ou leucócitos periféricos, ou por análise do DNA (veja a p. 473). O exame histológico do tecido afetado também é útil. (Nota: corpos de inclusão em forma de concha são observados na doença de Tay-Sachs, e um aspecto de papel amassado é observado no citoplasma na doença de Gaucher – Figura 17.19.) O diagnóstico pré-natal, usando cultura de amniócitos ou vilosidades coriônicas, também está disponível. A doença de Gaucher – em que os macrófagos se tornam ingurgitados com glicocerebrosideos – e a doença de Fabry – em que os globosídeos se acumulam nos lisossomos das células do endotélio vascular do sistema nervoso central, do coração, dos rins e da pele – têm sido tratadas utilizando terapia de reposição com enzimas humanas recombinantes, mas o custo monetário é extremamente alto. A doença de Gaucher também é tratada por transplante da medula óssea (porque os macrófagos são derivados de células-tronco hematopoiéticas) e pela terapia de redução de substrato, via redução farmacológica de glucosil-ceramida, o substrato da enzima deficiente.


Figura 17.19

Células da medula óssea aspiradas de paciente com a doença de Gaucher.

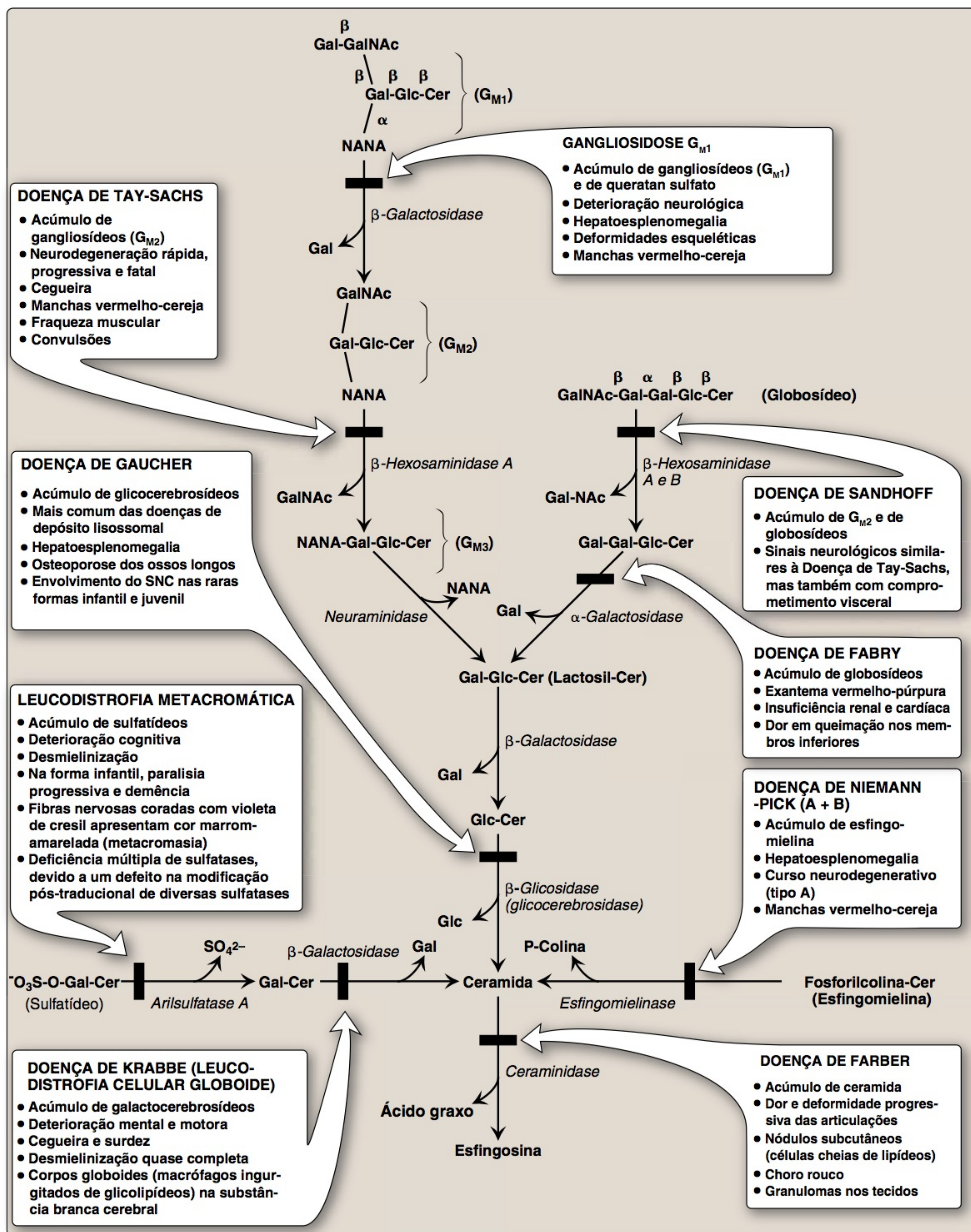


Figura 17.20

Degradação de esfingolipídeos, mostrando as enzimas deficientes em doenças genéticas relacionadas, as esfingolipidoses. Todas elas são autossômicas recessivas (exceto a doença de Fabry, que é ligada ao cromossomo X) e podem ser fatais na infância (Cer = ceramida).

VIII. PROSTAGLANDINAS E COMPOSTOS RELACIONADOS

As prostaglandinas e os compostos relacionados tromboxanos e leucotrienos são coletivamente conhecidos como eicosanoides, refletindo sua origem a partir de ácidos graxos poli-insaturados com 20 carbonos. São compostos extremamente potentes, que provocam um amplo espectro de respostas fisiológicas (resposta inflamatória) e patológicas (hipersensibilidade). Eles asseguram a integridade gástrica e a função renal, regulam a contração do músculo liso (intestino e útero são sítios-chave) e o diâmetro dos vasos sanguíneos, além de manterem a homeostase plaquetária. Embora suas ações tenham sido comparadas com as dos hormônios, os eicosanoides diferem dos hormônios verdadeiros porque são produzidos em quantidades muito pequenas por quase todos os tecidos, em vez de serem produzidos por um determinado tecido ou uma glândula especializada. Eles também atuam localmente e não em sítios distantes atingidos por meio da corrente circulatória, situação que ocorre com os hormônios verdadeiros, como a insulina. Os eicosanoides não são armazenados e têm uma meia-vida extremamente curta, sendo rapidamente metabolizados em compostos inativos. Suas ações biológicas são mediadas por receptores de membrana acoplados a proteínas G (veja a p. 94), que variam nos diferentes tecidos. Exemplos de prostaglandinas e compostos relacionados são mostrados na Figura 17.21.

A. Síntese de prostaglandinas e tromboxanos

O precursor das prostaglandinas encontrado na dieta é um ácido graxo essencial, o ácido linoleico, um ácido graxo ω -6. Ele é elongado e desaturado, resultando em ácido araquidônico (também um ω -6), o precursor imediato da classe predominante das prostaglandinas (prostaglandinas com duas ligações duplas) em humanos (Figura 17.22). (Nota: o ácido araquidônico é incorporado em fosfolipídeos de membrana e deles liberado pela ação da *fosfolipase A₂* em resposta a uma variedade de sinais – Figura 17.23.)

1. **Síntese da PGH₂.** O primeiro passo na síntese das prostaglandinas é a ciclização oxidativa do ácido araquidônico livre pela *prostaglandina-endoperoxido-sintase* (PGH-sintase), resultando em PGH₂. Essa enzima é uma proteína associada à membrana do retículo endoplasmático com duas atividades catalíticas: a *ácido graxo-cicloxigenase* (COX), que requer duas moléculas de O₂, e a *peroxidase*, que é dependente de glutatona reduzida (veja a p. 148). A PGH₂ é convertida em diversas prostaglandinas e tromboxanos por uma variedade de *sintases* específicas de cada tipo celular, como mostra a Figura 17.23.

- a. **Isoenzimas da PGH-sintase.** São conhecidas duas isoenzimas da PGH-sintase, comumente referidas como COX-1 e COX-2. A COX-1 existe constitutivamente na maioria dos tecidos e é necessária para a manutenção de um tecido gástrico saudável, para a homeostase renal e para a agregação plaquetária. A COX-2 é induzível em um limitado número de tecidos em resposta a produtos da ativação de células inflamatórias e do sistema imunológico. (Nota: o aumento da síntese de prostaglandinas, subsequente à indução de COX-2, medeia a dor, o calor, o rubor e o edema das inflamações e a resposta febril em infecções.)

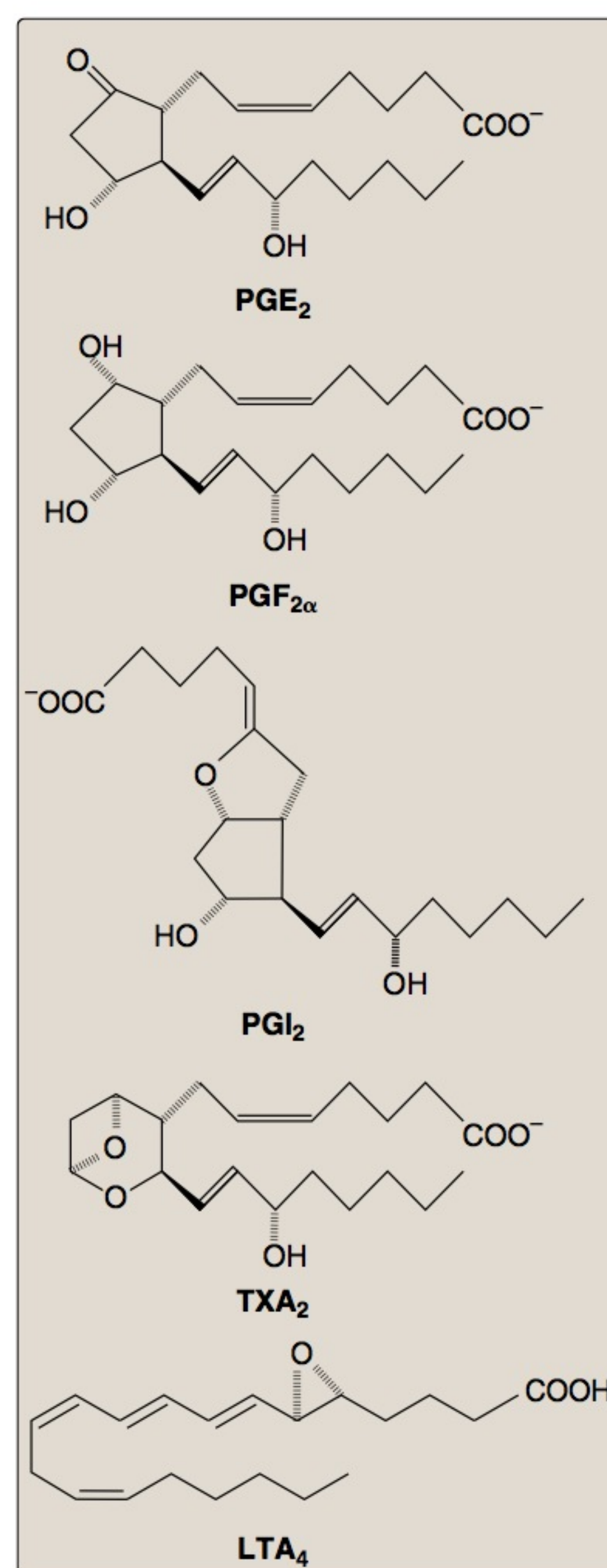
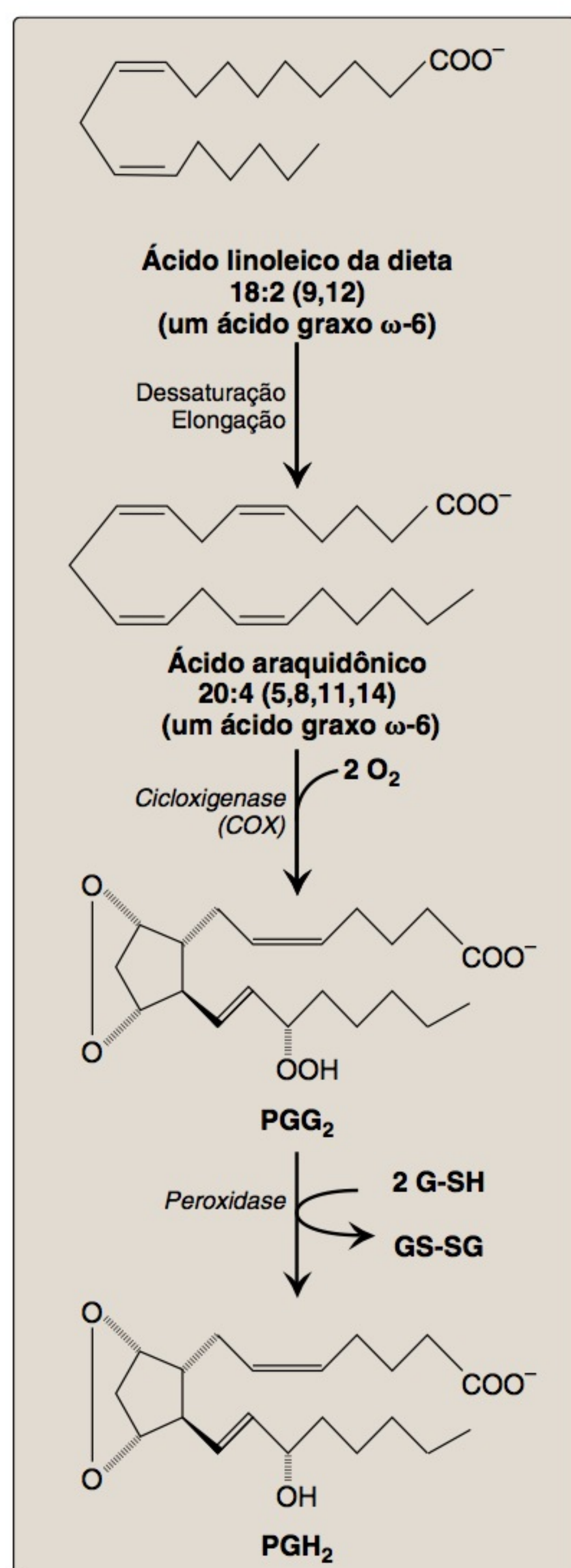


Figura 17.21

Exemplos de estruturas de prostaglandinas. As prostaglandinas são denominadas pela sigla PG seguida por uma terceira letra (p. ex., A, D, E, F), que designa o tipo e o arranjo dos grupos funcionais na molécula. O número subscrito indica o número de ligações duplas na molécula. A PGI₂ é conhecida como prostaciclina. Tromboxanos são designados por TX e leucotrienos por LT.

**Figura 17.22**

Oxidação e ciclização do ácido araquidônico pelas duas atividades catalíticas da *prostaglandina-endoperóxido-sintase*. G-SH = glutatona reduzida; GS-SG = glutatona oxidada.

2. Inibição da síntese de prostaglandinas. A síntese de prostaglandinas pode ser inibida por uma série de compostos não relacionados. Por exemplo, o cortisol (um esteroide anti-inflamatório) inibe a atividade da *fosfolipase A₂* (Figura 17.23) e, portanto, o precursor das prostaglandinas, o ácido araquidônico, não é disponibilizado a partir de fosfolípidos de membrana. A aspirina[®], a indometacina e a fenilbutazona (agentes anti-inflamatórios não esteroides, AINE) inibem a atividade de ambas, *COX-1* e *COX-2*, e, portanto, impedem a síntese de PGG₂, a prostaglandina precursora das demais. (Nota: a inibição sistêmica de *COX-1*, causando, posteriormente, dano ao estômago e aos rins, bem como redução na coagulação sanguínea, é a base da toxicidade da Aspirina[®].) Inibidores específicos da *COX-2* (p. ex., o celecoxibe¹) são planejados para reduzir o processo inflamatório patológico, mantendo as funções fisiológicas da *COX-1*; entretanto, seu uso tem sido associado com aumento do risco de isquemias cardíacas.

B. Síntese de leucotrienos

O ácido araquidônico é convertido em uma variedade de hidroperoxiácidos lineares por meio de uma rota separada, envolvendo uma família de *lipoxigenases* (LOX). Por exemplo, a *5-lipoxigenase*, que converte o ácido araquidônico em ácido 5-hidroxi-6,8,11,14-eicosatetraenóico (5-HPETE; veja a Figura 17.23). O 5-HPETE é convertido em uma série de leucotrienos, cuja natureza varia de acordo com os tecidos. Os leucotrienos são mediadores de respostas alérgica e inflamatória. A síntese destes compostos não é afetada pelos AINE. (Nota: a asma induzida pelo uso de Aspirina[®] é uma resposta à superprodução de leucotrienos com a utilização de AINE. Entretanto, os AINE também favorecem a síntese de lipoxinas (LX), derivados lipídicos que têm efeito anti-inflamatório.) Inibidores da *5-lipoxigenase* e antagonistas de receptores para leucotrienos são usados no tratamento da asma.³

C. O papel das prostaglandinas na homeostase plaquetária

O tromboxano A₂ (TXA₂) é produzido pela *COX-1* em plaquetas ativadas. Ele promove a aderência e a agregação das plaquetas circulantes, além da contração da musculatura lisa vascular, promovendo, portanto, a formação de coágulos sanguíneos (trombos). A prostaciclina (PGI₂), produzida pela *COX-2* nas células do endotélio vascular, inibe a agregação plaquetária e estimula a vasodilatação, impedindo, assim, a trombogênese. Esses efeitos opostos de TXA₂ e PGI₂ restringem a formação de trombos a sítios de dano vascular. (Nota: a Aspirina[®] tem um efeito anti-trombogênico. Ela inibe a *COX-1* [e a formação de TXA₂] em plaquetas, e a *COX-2* [e a formação do PGI₂] em células endoteliais, por acetilação irreversível dessas isoenzimas – Figura 17.24. Essa inibição irreversível da *COX-1* não pode ser superada em plaquetas (que são anucleadas), mas a inibição da *COX-2* pode ser superada por células endoteliais, que têm núcleo e podem gerar mais enzima. Essa diferença é a base da terapia com baixa dose de Aspirina[®] para reduzir o risco de isquemia cerebral e cardíaca por decrescer a formação de trombos.)



¹Veja o Capítulo 41 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca de fármacos anti-inflamatórios.

²Veja o Capítulo 27 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca do tratamento da asma.

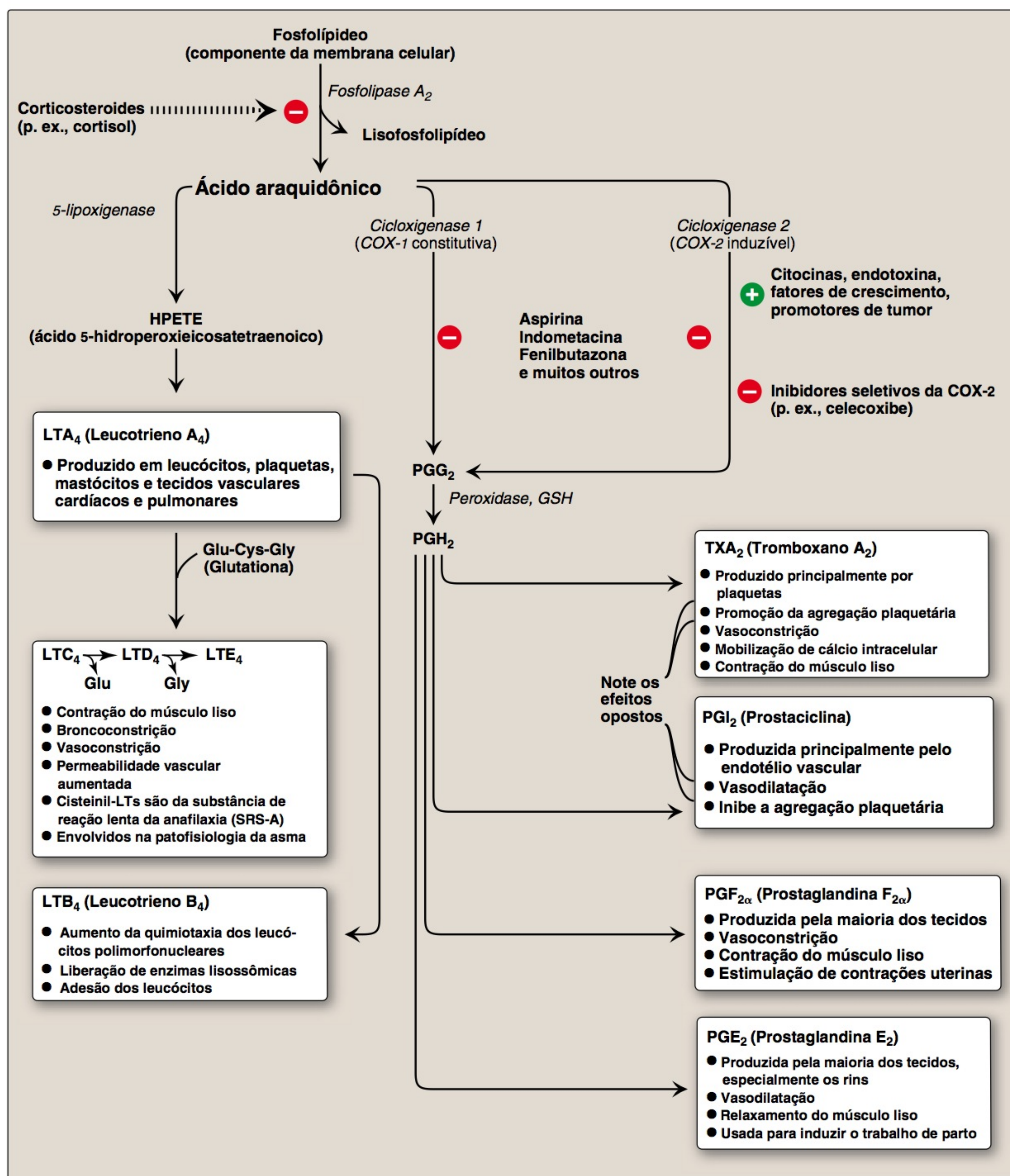


Figura 17.23

Uma visão geral da biossíntese e da função de algumas prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos importantes, derivados do ácido araquidônico.

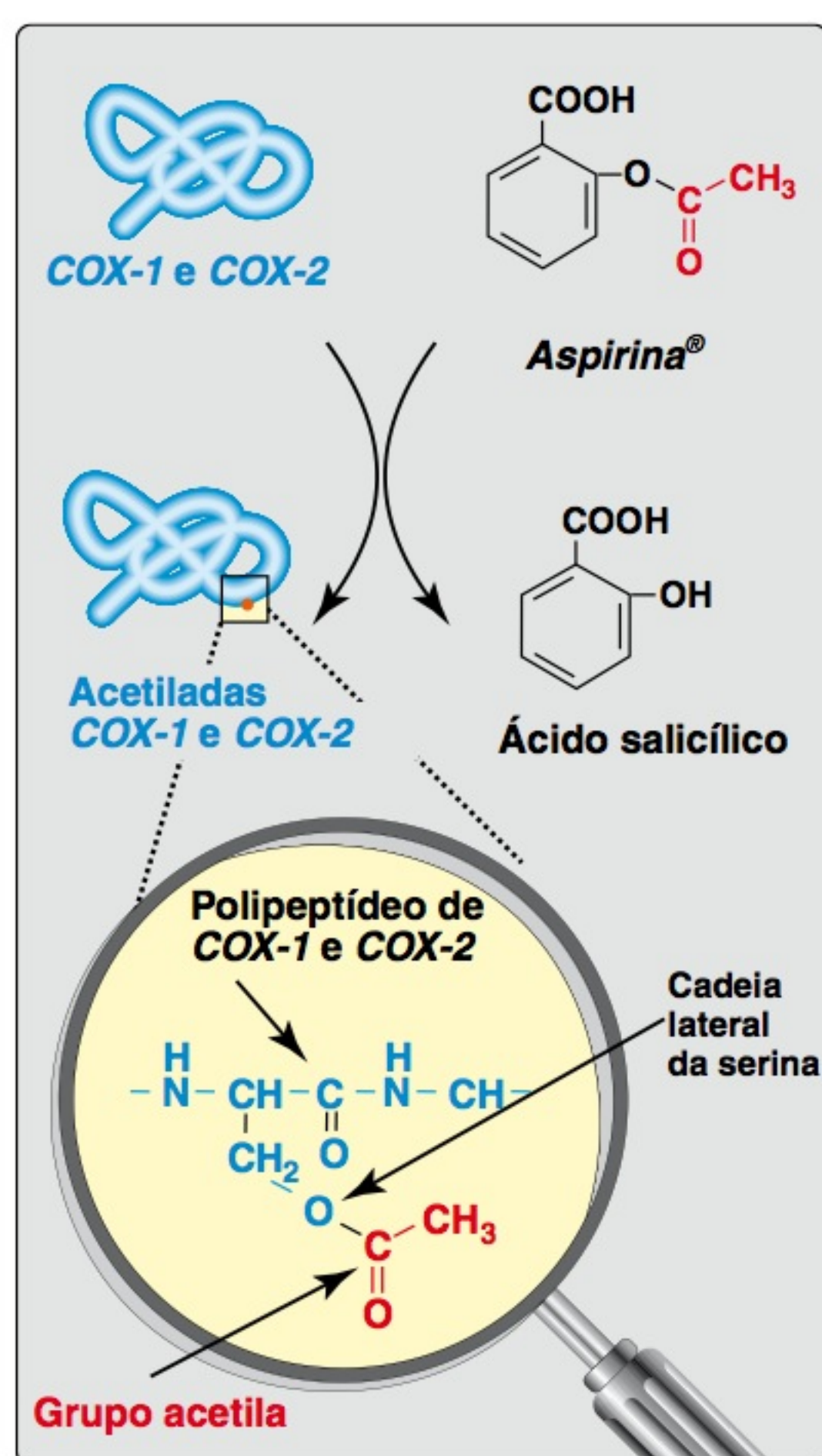


Figura 17.24

Acetilação irreversível da COX-1 e da COX-2 pela aspirina.

IX. RESUMO DO CAPÍTULO

Os **fosfolípidos** são compostos **polares, iônicos**, compostos de um **álcool** (p. ex., **colina** ou **etanolamina**) ligado por uma ponte fosfodiéster ao **diacilglicerol** (produzindo **fosfatidilcolina** ou **fosfatidiletanolamina**) ou à **esfingosina** (Figura 17.25). O álcool aminado **esfingosina** ligado a um longo ácido graxo produz uma **ceramida**. A adição de uma fosforilcolina produz o fosfolípido **esfingomielina**, que é o único esfingofosfolípido a ocorrer em quantidades significativas em humanos. Os fosfolípidos são os lípidos predominantes nas **membranas celulares**. Os fosfolípidos não ligados às membranas servem como componentes do **surfactante pulmonar** e da **bile**. O **dipalmitoilfosfatidilcolina** (DPPC, também chamado de **dipalmitoil-lecitina**) é o principal componente lipídico do **surfactante pulmonar**. A produção insuficiente de surfactante pulmonar causa a **síndrome da angústia respiratória**. O **fosfatidilinositol** (PI) serve como reservatório de **ácido araquidônico** nas membranas. A fosforilação de PI na membrana leva à formação de **fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato** (PIP₂). Esse composto é hidrolisado pela **fosfolipase C** em resposta à ativação de uma variedade de receptores de membrana por neurotransmissores, hormônios e fatores de crescimento. Os produtos dessa hidrólise, **inositol-1,4,5-trisfosfato** (IP₃) e **diacilglicerol**, medeiam a mobilização do **cálcio** intracelular e a ativação da **proteína-cinase C**, que agem sinergicamente para provocar respostas celulares. Determinadas proteínas podem ser ligadas covalentemente a moléculas de fosfatidilinositol componente da membrana via uma ponte de carboidrato (**glicosilfosfatidilinositol**, GPI). A deficiência da síntese de GPI em células hematopoiéticas resulta em anemia hemolítica, denominada **hemoglobinúria noturna paroxística**. A **degradação** de fosfoglicerídeos é executada por **fosfolipases** encontradas em todos os tecidos e no suco pancreático. A **esfingomielina** é degradada em ceramida e fosforilcolina pela **esfingomielinase**, uma enzima lisossomal. A deficiência de esfingomielinase causa a **doença de Niemann-Pick (A+B)**. Os **glicolípídeos** (glicoesfingolípídeos) são derivados de **ceramidas**, em que foram ligados carboidratos. A adição de um monossacarídeo a uma ceramida resulta em um **cerebrosídeo**. Se um oligossacarídeo é adicionado, temos um **globo-sídeo**. Se um ácido N-acetilneuramínico (NANA) é adicionado, temos um **gangliosídeo**. Os glicolípídeos são encontrados predominantemente nas membranas celulares do **tecido nervoso central e periférico**, sendo abundantes na **bainha de mielina**. Eles são muito **antigênicos**. Os glicolípídeos são degradados nos **lisossomos** por enzimas hidrolíticas. A deficiência de uma dessas enzimas produz uma **esfingolipidose**, caracterizada pelo acúmulo de determinado tipo de esfingolípido. As **prostaglandinas** (PG), os **tromboxanos** (TX) e os **leucotrienos** (LT) são produzidos em quantidades muito pequenas por quase todos os tecidos, atuam localmente e têm meia-vida extremamente curta. **Eles medeiam as respostas inflamatórias**. O precursor dos eicosanóides na dieta é um ácido graxo essencial, o **ácido linoleico**. Ele é alongado e dessaturado, resultando em **ácido araquidônico** – o precursor imediato das prostaglandinas –, que é armazenado na membrana celular como componente de fosfolípidos, mais comumente o fosfatidilinositol. O ácido araquidônico é liberado de um fosfolípido por ação da **fosfolipase A₂**. A síntese de **prostaglandinas** e **tromboxanos** começa com a ciclicização oxidativa do ácido araquidônico livre, resultando em PGH₂, pela enzima **prostaglandina-endoperóxido-sintase** – proteína da membrana do retículo endoplasmático que tem duas atividades catalíticas: **ácido graxo cicloxigenase** (COX) e **peroxidase**. Os efeitos opostos da PGI₂ e TXA₂ limitam a formação de coágulos. Há duas isoenzimas dessa sintase: **COX-1** (constitutiva) e **COX-2**. Os AINE inibem ambas. Os **leucotrienos** são moléculas lineares produzidas pela rota da **5-lipoxigenase**. Eles medeiam respostas alérgicas e não são afetadas pelos AINE.

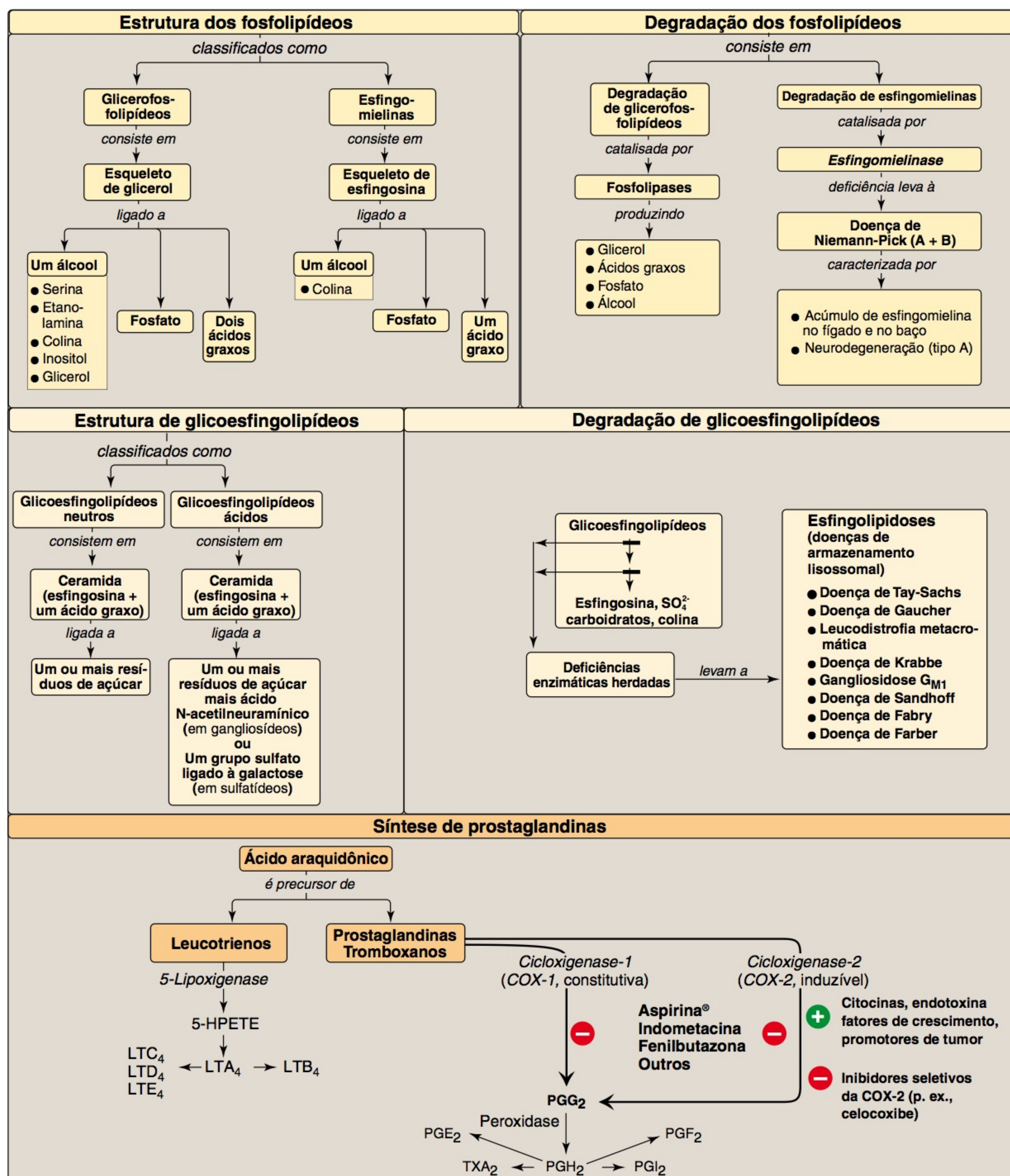


Figura 17.25

Mapa de conceitos-chave para os lipídeos complexos.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

17.1 A asma induzida por aspirina (AIA) é uma reação grave aos agentes anti-inflamatórios não esteroides (AINE), caracterizada por broncoconstrição, que ocorre de 30 minutos até várias horas após a ingestão. É observada em até 20% dos indivíduos adultos. Qual das seguintes afirmações melhor explica os sintomas encontrados em pacientes com AIA?

- A. Os AINE inibem a atividade da proteína reguladora da condutância transmembrana da fibrose cística (RTFC), resultando em secreção viscosa, causando bloqueio das vias aéreas.
- B. Os AINE inibem a COX, mas não a lipoxigenase, resultando na conversão de ácido araquidônico em leucotrienos.
- C. Os AINE induzem a atividade de COX da PGH-sintase, resultando no aumento da síntese de prostaglandinas, que promovem a vasodilatação.
- D. Os AINE ativam fosfolipases, o que resulta em decréscimo de dipalmitoil-fosfatidilcolina e em colapso alveolar (atelectasia).

17.2 Um neonato, nascido durante a 28ª semana de gestação, apresentou evidências de dificuldade respiratória. Exames laboratoriais e de raios X sustentaram o diagnóstico de síndrome de angústia respiratória (SAR). Qual das seguintes afirmativas acerca dessa síndrome é verdadeira?

- A. Ela não está relacionada ao nascimento prematuro.
- B. Ela é consequência do baixo número de pneumócitos tipo II.
- C. A razão L/E (lecitina/esfingomielina) no líquido amniótico é provavelmente maior do que dois.
- D. A concentração de dipalmitoilfosfatidilcolina no líquido amniótico deve ser menor do que para o recém-nascido a termo.
- E. A SAR é um distúrbio facilmente tratável, com baixa mortalidade.

17.3 Foi posto em discussão o caso de uma mulher de 25 anos, com uma história que incluía hepatoesplenomegalia com consequente remoção do baço, dores nos ossos e nas articulações, diversas fraturas no fêmur, além de uma biópsia hepática mostrando células de aspecto enrugado, com acúmulo de glicosilceramidas. O provável diagnóstico dessa paciente é:

- A. Doença de Fabry.
- B. Doença de Farber.
- C. Doença de Gaucher.
- D. Doença de Krabbe.
- E. Doença de Niemann-Pick.

Resposta correta = B. Os AINE inibem a COX, mas não a lipoxigenase, portanto o ácido araquidônico disponível é usado para a síntese de leucotrienos, que são broncoconstritores. Os AINE não têm efeito sobre a proteína RTFC, envolvida na fibrose cística. Os esteroides, mas não os AINE, inibem a fosfolipase A₂. A COX é inibida, não ativada, por AINE. Os AINE não apresentam efeito sobre fosfolipases.

Resposta correta = D. A dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC, ou dipalmitoil-lecitina) é o principal componente do surfactante pulmonar encontrado nos pulmões de recém-nascidos, saudáveis. A SAR pode ocorrer em pulmões que produzem pouco desse composto. Se a razão lecitina/esfingomielina no líquido amniótico é maior do que dois, os pulmões do recém-nascido são considerados suficientemente maduros para a produção do surfactante. Em contraste, uma razão L/E menor que dois é observada em pulmões imaturos. A SAR não seria consequência do baixo número de pneumócitos tipo II: essas células estariam apenas secretando esfingomielina em vez de DPPC em 28 semanas de gestação.

Resposta correta = C. A forma adulta da doença de Gaucher causa hepatoesplenomegalia e osteoporose dos ossos longos. É caracterizada por aspecto enrugado do citoplasma das células. A doença é uma esfingolipidose que acumula glicosil-ceramidas. A enzima deficiente é a β -glicosidase (uma glicocerebrosidase).

Colesterol e Metabolismo dos Esteroides

I. VISÃO GERAL

O colesterol é o esteroide característico dos tecidos animais e desempenha várias funções essenciais no organismo. Por exemplo, o colesterol é componente estrutural de todas as membranas celulares, modulando sua fluidez, e, em tecidos especializados, o colesterol é o precursor dos ácidos biliares, dos hormônios esteroides e da vitamina D. Portanto, é muito importante que as células tenham um suprimento apropriado de colesterol. Para manter esse suprimento, existem complexos sistemas de transporte, de biossíntese e mecanismos de regulação. O fígado tem papel central na regulação da homeostasia do colesterol. Por exemplo, o conjunto hepático de moléculas de colesterol é formado a partir de várias fontes, que incluem a dieta, a síntese *de novo* pelos tecidos extra-hepáticos e a síntese local. O colesterol é eliminado do fígado pela bile no lúmen intestinal sem sofrer modificações ou é convertido em sais biliares. Ele também é enviado para os tecidos periféricos como componente das lipoproteínas plasmáticas. Em humanos, o equilíbrio entre o influxo e o efluxo de colesterol não é perfeito, resultando em deposição gradual de colesterol nos tecidos, particularmente no endotélio vascular. Quando a deposição de lipídeos leva à formação de placas, causando o estreitamento dos vasos (aterosclerose), significa que há um fator potencial de risco à saúde, aumentando a incidência de doenças cardiovasculares, cerebrovasculares e vasculares periféricas. A Figura 18.1 resume as principais fontes do colesterol hepático e as vias pelas quais o colesterol deixa o fígado.

II. ESTRUTURA DO COLESTEROL

O colesterol é um composto muito hidrofóbico. Sua estrutura consiste em quatro anéis hidrocarbonados fundidos (A, B, C e D), chamados “núcleo esteroide”. Ligada ao carbono 17 do anel D, existe uma cadeia hidrocarbonada ramificada de oito átomos de carbono. O anel A tem uma hidroxila no carbono 3 e o anel B uma dupla-ligação entre os carbonos 5 e 6 (Figura 18.2).

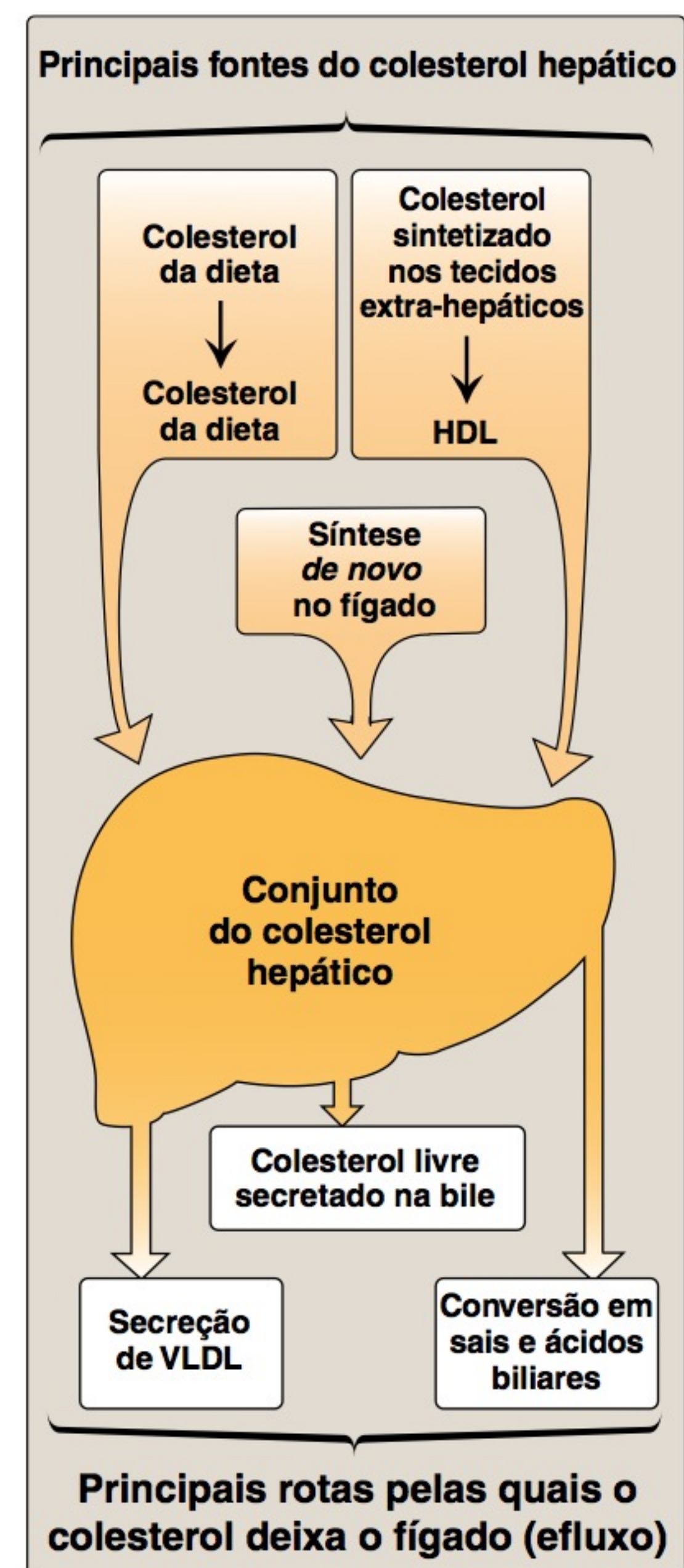


Figura 18.1

Fontes do colesterol hepático (influxo) e rotas pelas quais o colesterol deixa o fígado (efluxo).

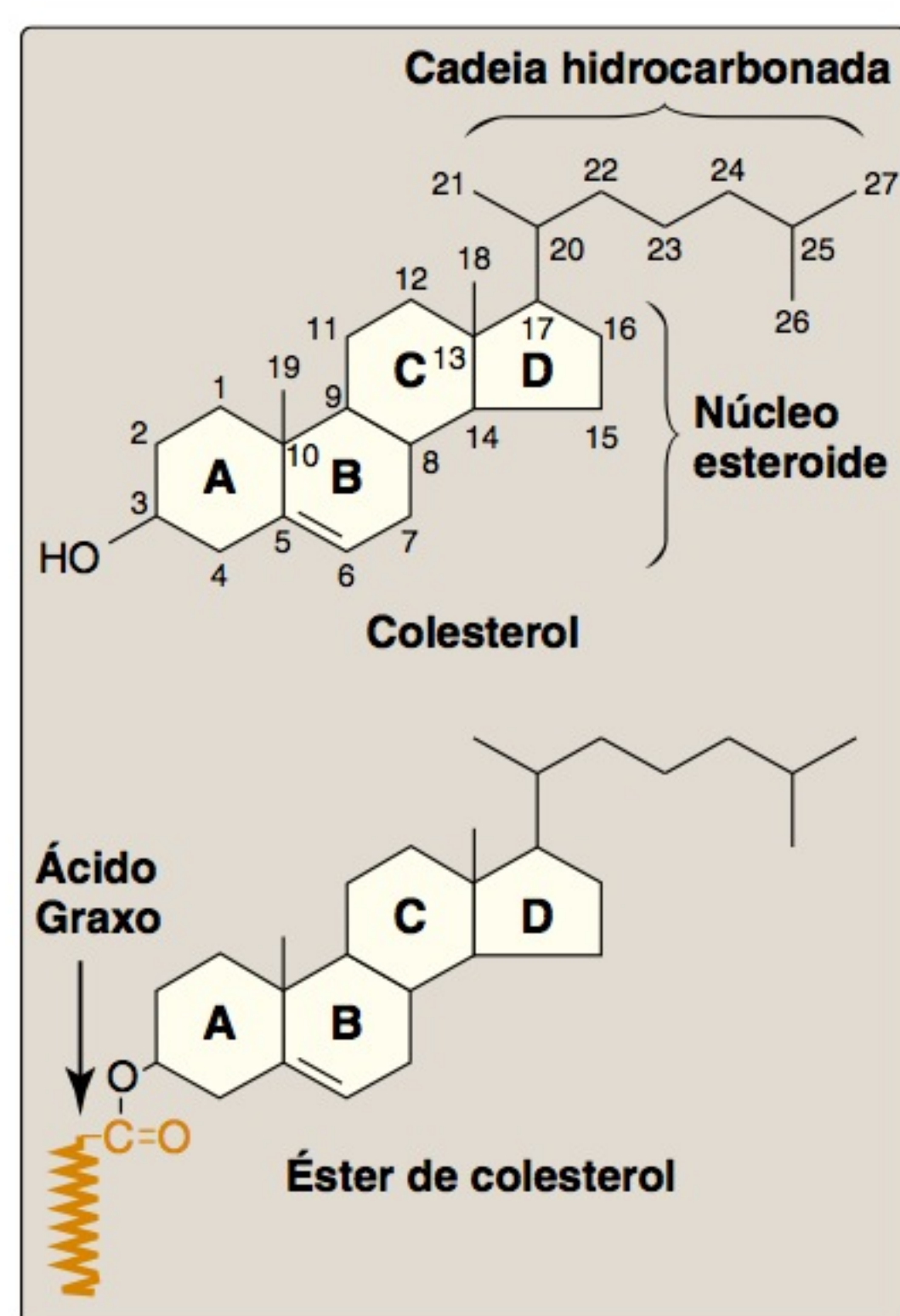


Figura 18.2

Estrutura do colesterol e de um éster de colesterol.

A. Esteróis

Os esteroides com oito a 10 átomos de carbono na cadeia lateral ligada ao carbono 17 e um grupo hidroxila no C3 são classificados como esteróis. O colesterol é o principal esteroide dos tecidos animais. (Nota: esteróis vegetais, como o β -sitosterol, são pouco absorvidos por humanos. Depois de absorvidos pelos enterócitos, eles são transportados ativamente de volta para o lúmen intestinal. Como o colesterol pode ser transportado junto com os esteróis vegetais, esses compostos parecem reduzir a absorção do colesterol presente na dieta. Por esse motivo, dietas contendo fitoesteroides são usadas no tratamento da hipercolesterolemia. A ingestão diária de ésteres de esteroides vegetais, na forma comercialmente disponível de margarina livre de ácidos graxos trans, é uma das várias estratégias dietéticas para a redução dos níveis plasmáticos de colesterol – veja a p. 363.)

B. Ésteres de colesterol

A maior parte do colesterol plasmático está na forma de éster (com um ácido graxo ligado ao carbono 3, Figura 18.2). O éster de colesterol é uma molécula ainda mais hidrofóbica que o colesterol livre (não esterificado) e não é encontrado nas membranas celulares, existindo apenas em pequenas quantidades na maioria das células. Devido a sua hidrofobicidade, o colesterol e seus ésteres devem ser transportados associados a proteínas, como componentes de partículas lipoproteicas (veja a p. 227) ou devem ser solubilizados por fosfolipídeos e sais biliares na bile (veja a p. 226).

III. SÍNTESE DO COLESTEROL

O colesterol é sintetizado por praticamente todos os tecidos humanos, embora fígado, intestino, córtex adrenal e os tecidos reprodutivos, incluindo ovários, testículos e placenta, sejam os maiores contribuintes para a síntese endógena do colesterol presente no organismo. Como no caso dos ácidos graxos, todos os átomos de carbono do colesterol são derivados do acetato e o NADPH é o doador dos equivalentes redutores. A rota de síntese do colesterol é endoergônica, sendo a energia garantida pela hidrólise de ligações tioéster de alta energia da acetil-coenzima A (CoA) e dos fosfatos terminais do trifosfato de adenosina (ATP). A síntese requer enzimas encontradas no citosol e nas membranas do retículo endoplasmático liso (RE). A velocidade da rota de síntese responde a mudanças na concentração de colesterol. Existem mecanismos de regulação que modulam a velocidade da síntese endógena em função da velocidade de excreção. Um desequilíbrio nessa regulação pode elevar os níveis circulantes de colesterol, aumentando o risco de doença vascular.

A. Síntese de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA)

As duas primeiras reações da síntese de colesterol são similares às que produzem corpos cetônicos (veja a Figura 16.22, p. 196), resultando na formação HMG-CoA (Figura 18-3). Inicialmente, duas moléculas de acetil-CoA se condensam para formar acetoacetyl-CoA. A seguir, uma terceira molécula de acetil-CoA é adicionada, produzindo HMG-CoA, um composto de seis carbonos. (Nota: as células do parênquima hepático possuem duas isoformas de *HMG-CoA-sintase*. A enzima citosólica participa da síntese de colesterol, enquanto a enzima mitocondrial é responsável pela síntese de corpos cetônicos.)

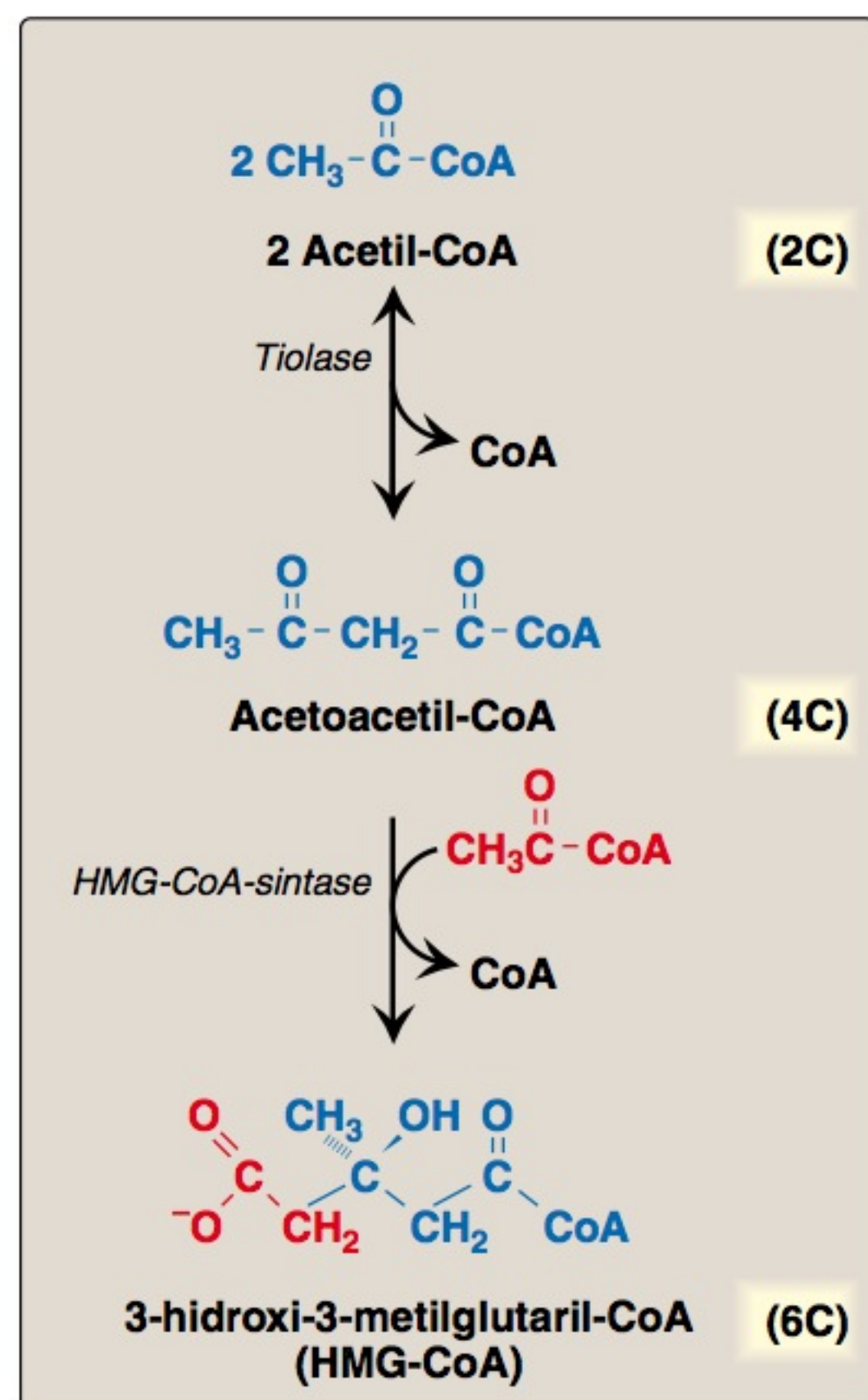


Figura 18.3

Síntese de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA).

B. Síntese do ácido mevalônico (mevalonato)

A próxima reação, a redução do HMG-CoA formando ácido mevalônico, é catalisada pela *HMG-CoA-redutase* e é a etapa limitante da velocidade e

o passo regulador da síntese do colesterol. Ela ocorre no citosol, usando duas moléculas de NADPH como agente redutor, liberando CoA, o que torna a reação irreversível (Figura 18.4). (Nota: a *HMG-CoA-redutase* é uma proteína intrínseca da membrana do RE, com o domínio catalítico voltado para o citosol. A regulação da atividade da *HMG-CoA-redutase* será discutida posteriormente.)

C. Síntese do colesterol

As reações e as enzimas envolvidas na síntese do colesterol a partir de mevalonato estão ilustradas na Figura 18.5. (Nota: os números mostrados entre colchetes, no texto abaixo, correspondem à numeração das reações nessa figura.)

- [1] O mevalonato é convertido em 5-pirofosfomevalonato. A reação ocorre em duas etapas, ambas com transferência de um grupo fosfato doado pelo ATP.
- [2] Uma unidade isoprênica de cinco carbonos, isopentenil-pirofosfato (IPP), é formada pela descarboxilação do 5-pirofosfomevalonato. A reação requer ATP. (Nota: o IPP é o precursor dos isoprenoides, uma família de moléculas com diversas funções. O colesterol é um isoprenoide esteroide. Existem isoprenoides que não são esteróides, como o dolicol [veja a p. 167] e a ubiquinona [Coenzima Q; veja a p. 75].)
- [3] O IPP é isomerizado a 3,3-dimetilalil-pirofosfato (DPP).
- [4] Uma molécula de IPP condensa-se com uma de DPP, para formar o composto de dez carbonos geranyl-pirofosfato (GPP).
- [5] Uma segunda molécula de IPP condensa-se com o GPP para formar farnesil-pirofosfato (FPP), com 15 carbonos. (Nota: a ligação covalente de uma molécula de farnesil a proteínas, conhecida como “prenilação”, é um dos mecanismos de ancoragem de proteínas à membrana plasmática.)
- [6] Duas moléculas de FPP condensam-se e sofrem redução, com liberação de pirofosfato, gerando o composto de 30 carbonos chamado esqualeno. (Nota: o esqualeno é formado por seis unidades isoprênicas. Como três moléculas de ATP são hidrolisadas por resíduo de ácido mevalônico convertido em IPP, um total de 18 ATP são necessários para sintetizar o poli-isoprenoide esqualeno.)
- [7] O esqualeno é convertido no esteroide lanosterol em uma sequência de reações catalisadas por enzimas associadas ao RE, que usam oxigênio molecular e NADPH. A hidroxilação do esqualeno desencadeia a ciclização da estrutura, formando lanosterol.
- [8] A conversão do lanosterol em colesterol é feita em uma sequência de reações, que resultam na diminuição da cadeia carbonada de 30 para 27 átomos, na remoção de duas metilas do C4, na migração da ligação dupla do C8 para C5 e na redução da ligação dupla entre C24 e C25. (Nota: essas reações são catalisadas por enzimas associadas ao RE, e incluem diversas reações enzimáticas diferentes. A Síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS), uma doença autossômica recessiva relativamente comum relacionada à biossíntese do colesterol, é causada pela deficiência parcial da enzima *7-desidrocolesterol-7-redutase*, envolvida na migração da ligação dupla. A SLOS é uma das muitas síndromes de malformações embrionárias multissistêmicas associadas com defeitos na síntese do colesterol.)

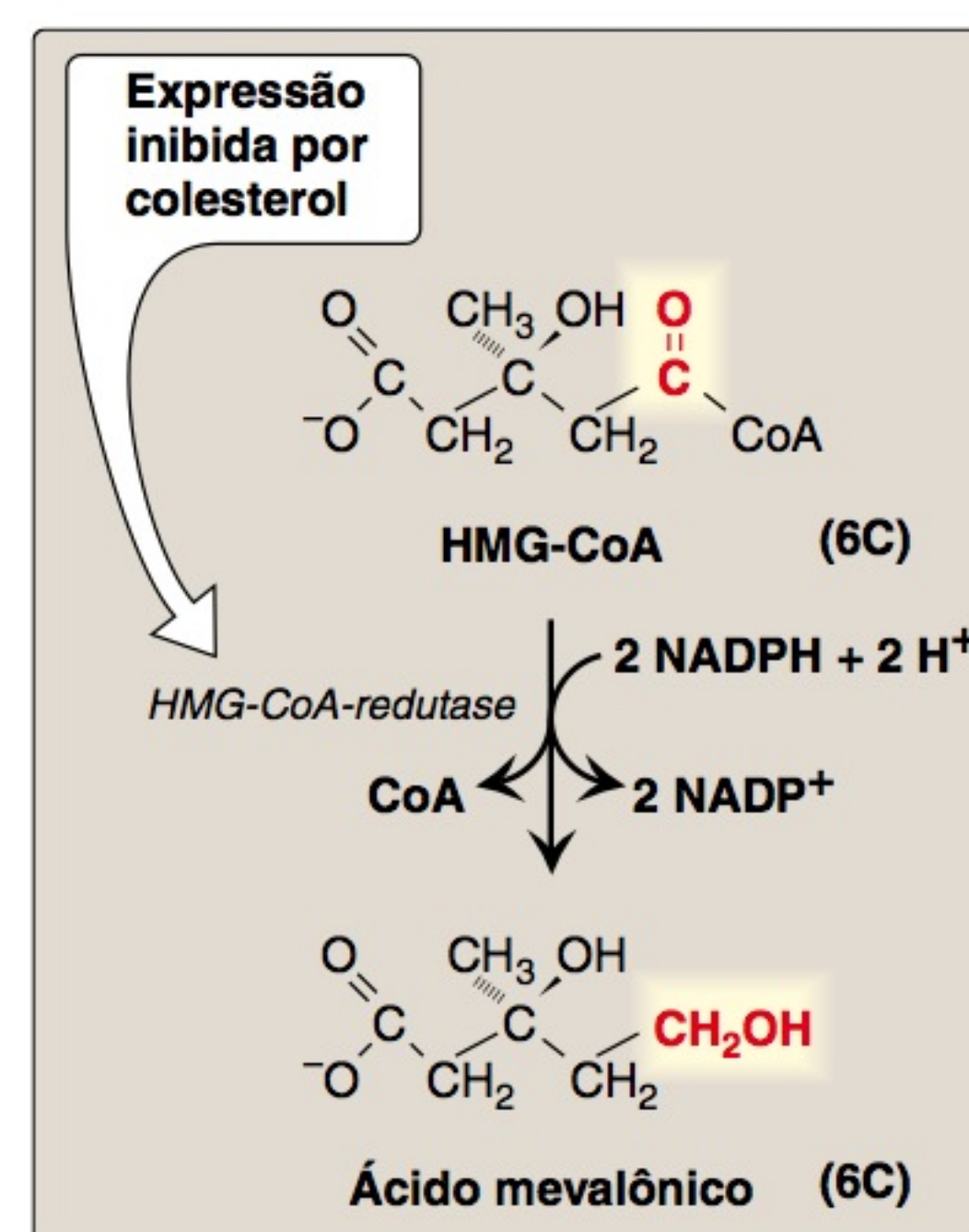


Figura 18.4

Síntese do ácido mevalônico.

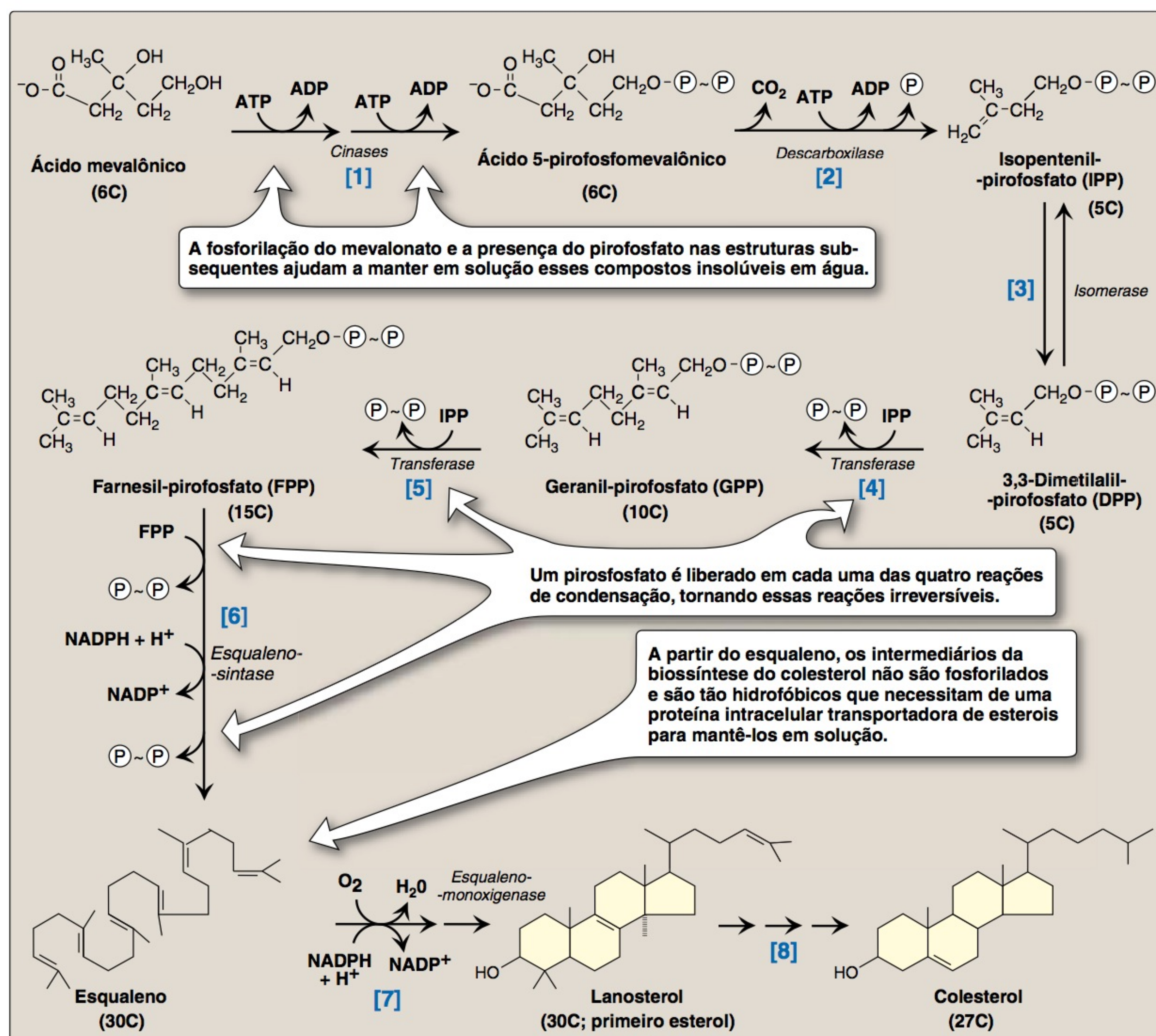


Figura 18.5

Síntese de colesterol a partir de ácido mevalônico.

D. Regulação da síntese do colesterol

A reação da *HMG-CoA-redutase*, enzima limitante da velocidade e principal ponto de controle da biossíntese do colesterol, está sujeita a diversos tipos de controle metabólico.

1. **Regulação da expressão gênica por esteróis.** A expressão do gene da *HMG-CoA-redutase* é controlada pelo fator de transcrição PLERE-2 (proteína ligadora do elemento de resposta a esteróis-2), que se liga ao DNA no elemento cis de resposta a esteróis (ERE) no gene da redutase. A PLERE, uma proteína integral da membrana do RE, associa-se a uma segunda proteína da membrana do RE, PAC (proteína ativadora da clivagem do PLERE). Quando os níveis celulares de esteróis são baixos, o complexo PAC-PLERE é transferido do RE para o aparelho de Golgi. Neste, a PLERE é clivada sequencialmente por duas *proteases*, gerando um fragmento solúvel que entra no núcleo, onde vai atuar como

um fator de transcrição, ligando-se ao ERE. O resultado é o aumento da síntese da *HMG-CoA-redutase* e, conseqüentemente, da síntese do colesterol (Figura 18.6). No entanto, quando os níveis de esteróis são altos, eles se ligam a um domínio sensível a esteróis da PAC e induzem sua ligação às proteínas *Insigs** na membrana do RE. Nesse caso, o complexo PAC-PLERE fica retido no RE, impedindo a ativação do PLERE, resultando em redução na síntese do colesterol.

2. **Aceleração da degradação enzimática dependente de esterol.** A própria *HMG-CoA-redutase* é uma proteína integral da membrana do RE sensível a esteróis. Quando os níveis celulares de esteróis são altos, a *redutase* se liga a proteínas *Insigs*. Essa ligação leva à ubiquitinação e à degradação proteossomal da *redutase* (veja a p. 247).
3. **Fosforilação/desfosforilação independente de esteróis.** A atividade da *HMG-CoA-redutase* é controlada por modificações covalentes produzidas pela ação da *proteína-quinase ativada por monofosfato de adenosina* (AMP) ou AMPK (veja a p. 183) e por uma *fosfoproteína-fosfatase* (Figura 18.6). A forma fosforilada da enzima é inativa, enquanto a desfosforilada é ativa. (Nota: a AMPK é ativada por AMP, de modo que a síntese de colesterol, da mesma forma que a dos ácidos graxos, diminui quando existe menor disponibilidade de ATP.)
4. **Regulação hormonal.** A quantidade (e, conseqüentemente, a atividade) da *HMG-CoA-redutase* é controlada por hormônios. O aumento da concentração de insulina e tiroxina (3,5,3',5'-tetraiodotironina, T4) favorece o aumento da expressão do gene da *HMG-CoA-redutase*. O glucagon e os glicocorticoides exercem efeito oposto.

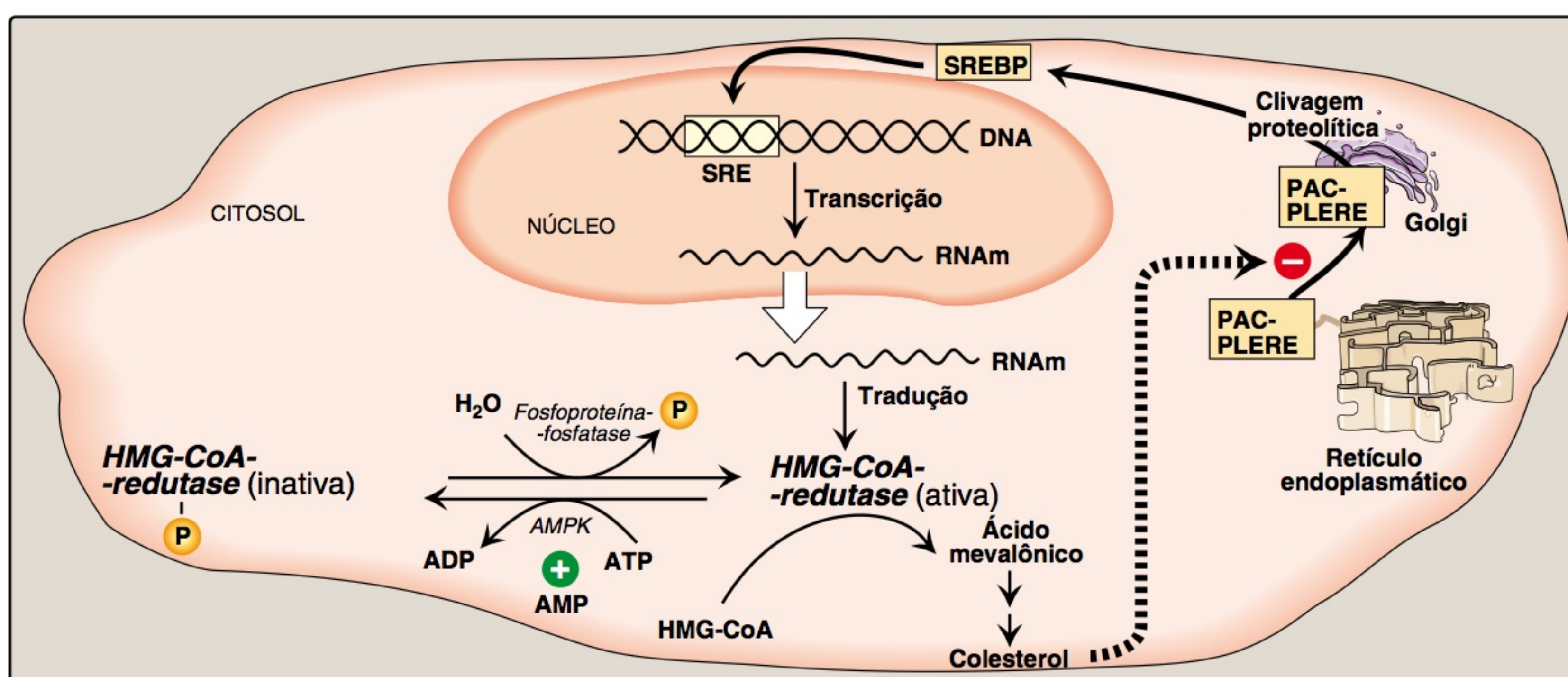
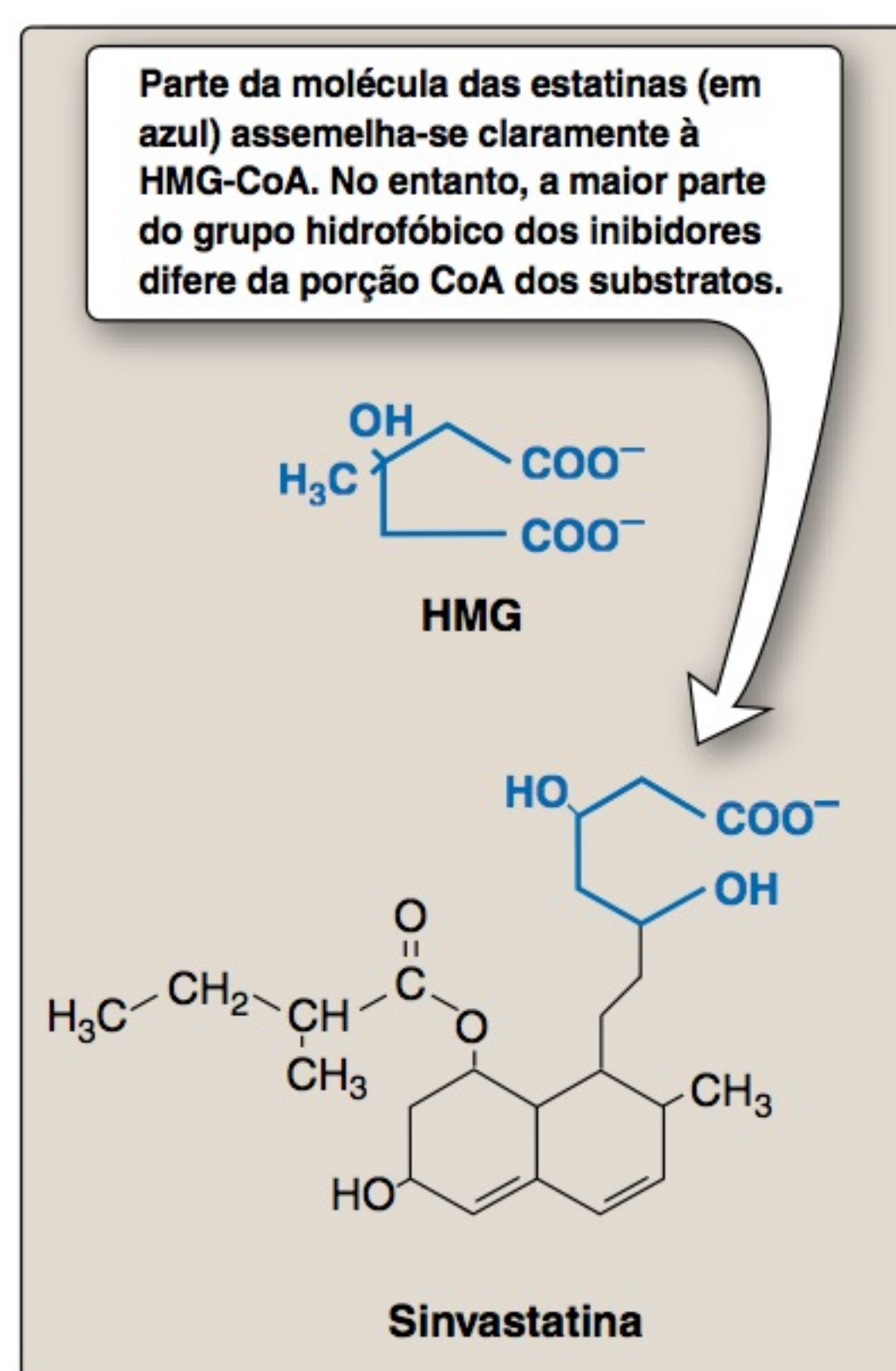


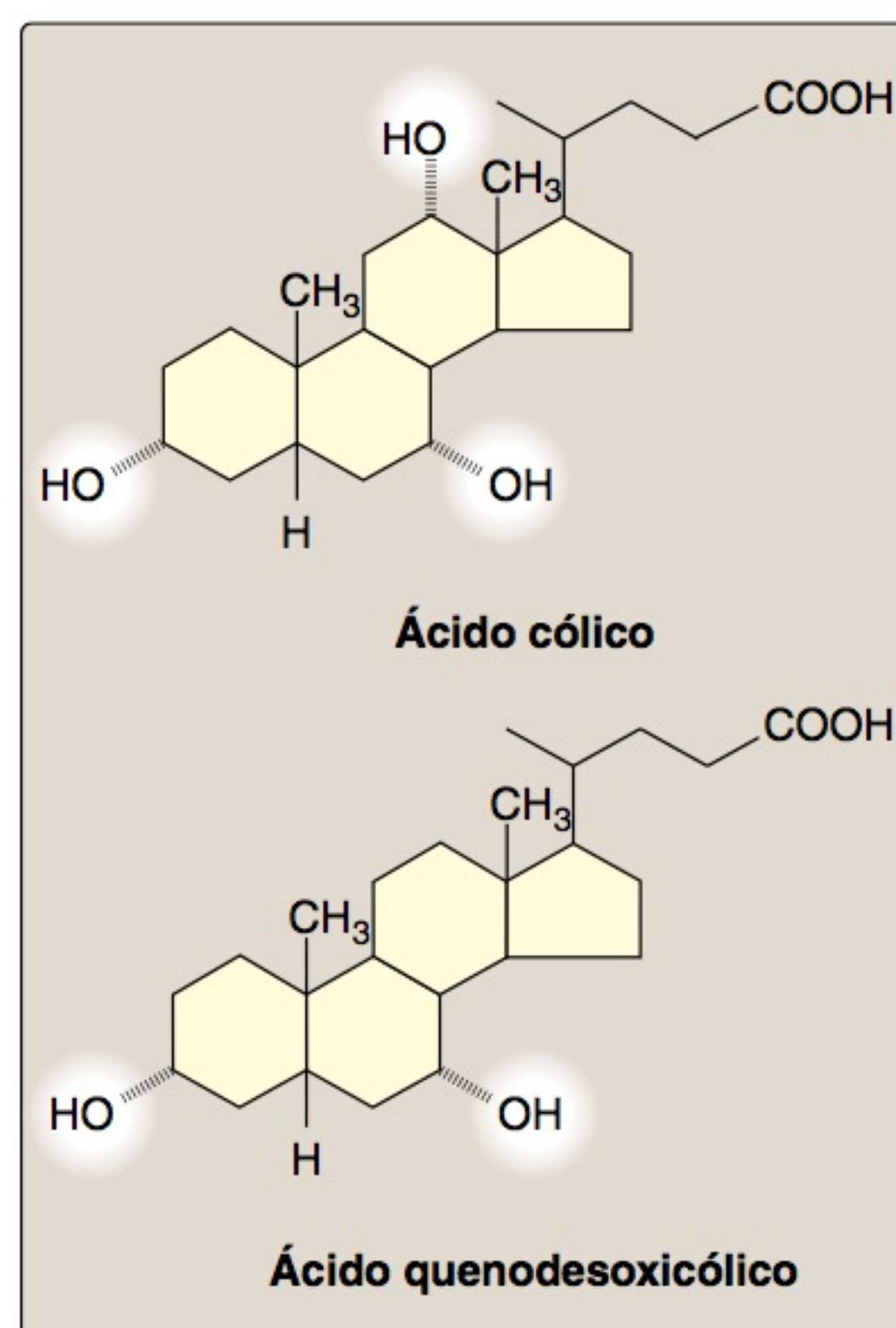
Figura 18.6

Regulação da *HMG-CoA-redutase*. ERE = elemento de resposta a esteróis; PLERE = proteína ligadora ao elemento de resposta a esteróis; PAC-PLERE = proteína ativadora da clivagem da PLERE.

* N. de T. *Insigs* são proteínas cujos genes são induzidos pela insulina (do inglês *insulin-induced genes*).

**Figura 18.7**

Semelhança estrutural entre o HMG e a pravastatina, um fármaco da família das “estatinas”, clinicamente útil para a redução do colesterol.

**Figura 18.8**

Ácidos biliares.

5. **Inibição por fármacos.** As estatinas (atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, rosuvastatina e simvastatina) são análogos estruturais do HMG-CoA e são (ou são metabolizados a) inibidores competitivos e reversíveis da *HMG-CoA-redutase* (Figura 18.7). Esses fármacos são usados para diminuir os níveis plasmáticos de colesterol em pacientes com hipercolesterolemia¹.

IV. DEGRADAÇÃO DO COLESTEROL

Em humanos, a estrutura cíclica do colesterol não pode ser degradada até CO_2 e H_2O . O núcleo esteroide é eliminado intacto pela conversão em ácidos e sais biliares, que são excretados nas fezes, e pela secreção de colesterol na bile, que o transporta até o intestino para eliminação. No intestino, parte do colesterol é modificada por bactérias antes da excreção. Os principais compostos formados são os isômeros coprostanol e coestanol, derivados reduzidos do colesterol. Junto com o colesterol, esses compostos representam a maior parte dos esteróis fecais neutros.

V. ÁCIDOS E SAIS BILIARES

A bile consiste em uma mistura aquosa de compostos orgânicos e inorgânicos. A fosfatidilcolina (lecitina, veja a p. 202) e sais biliares (ácidos biliares conjugados) são quantitativamente os componentes orgânicos mais importantes da bile. A bile é sintetizada no fígado e pode ser liberada diretamente no duodeno, pelo ducto biliar comum, ou ser armazenada na vesícula biliar, quando não necessitada imediatamente para a digestão.

A. Estrutura dos ácidos biliares

Os ácidos biliares têm 24 carbonos, com dois ou três grupos hidroxila e uma cadeia lateral que termina em um grupo carboxílico. O pK_a da carboxila é próximo a seis, portanto a carboxila não está completamente ionizada em pH fisiológico, o que explica o termo “ácido biliar”. Os ácidos biliares são compostos anfipáticos, nos quais os grupos hidroxila estão em posição α (“abaixo” do plano dos anéis) e os grupos metila estão em posição β (“acima” do plano dos anéis). Portanto, esses compostos apresentam uma face polar e uma apolar, e podem atuar como agentes emulsificantes no intestino, ajudando na preparação dos triacilgliceróis e de outros lipídeos complexos da dieta para a degradação pelas enzimas digestivas pancreáticas.

B. Síntese de ácidos biliares

Ácidos biliares são sintetizados no fígado por uma rota metabólica composta por muitas etapas enzimáticas e que acontece em várias organelas. Nessa rota, os grupos hidroxila são inseridos em posições específicas na estrutura do esteroide e a dupla-ligação do anel B do colesterol é reduzida. São retirados três átomos de carbono da cadeia lateral e um grupo carboxila é introduzido na extremidade. Os compostos resultantes mais comuns são o ácido cólico (um triol) e o ácido quenodesoxicólico (um diol, Figura 18.8), chamados de ácidos biliares “primários”. (Nota: a etapa limitante na síntese dos ácidos biliares é a introdução do grupo hidroxila no carbono 7 do núcleo esteroide pela



Veja o Capítulo 21 em **Farmacologia Ilustrada** para discussão sobre estatinas e outros fármacos usados no tratamento de hiperlipidemias.

colesterol-7- α -hidroxilase, uma enzima citocromo P450 (CYP) associada ao RE, encontrada somente no fígado. Essa enzima é inibida por ácido cólico [Figura 18.9].)

C. Síntese de sais biliares

Antes dos ácidos biliares deixarem o fígado, eles são conjugados com uma molécula de glicina ou de taurina (produto final do metabolismo da cisteína) por meio de uma ligação amida entre o grupo carboxila do ácido biliar e o grupo amino do composto adicionado. Essas novas estruturas incluem os ácidos glicocólico e glicoquenodesoxicólico, e os ácidos taurocólico e tauroquenodesoxicólico (Figura 18.10). A razão entre as formas glicina e taurina na bile é de aproximadamente 3:1. A adição de glicina ou taurina resulta em compostos com grupos carboxila com pK_a menor (da glicina), ou com um grupo sulfonado (da taurina), ambos completamente ionizados (com cargas negativas) em pH fisiológico; assim, as formas conjugadas são chamadas sais biliares. Os sais biliares são detergentes mais efetivos que os ácidos biliares, por terem a sua natureza anfipática aumentada. Desse modo, somente as formas conjugadas – os sais biliares – são encontradas na bile. Indivíduos com deficiências genéticas na conversão do colesterol em ácidos biliares são tratados com suprimento exógeno de ácido quenodesoxicólico.



Os sais biliares são a única forma significativa de excreção do colesterol, tanto como metabólitos do colesterol quanto como agentes solubilizadores do colesterol na bile.

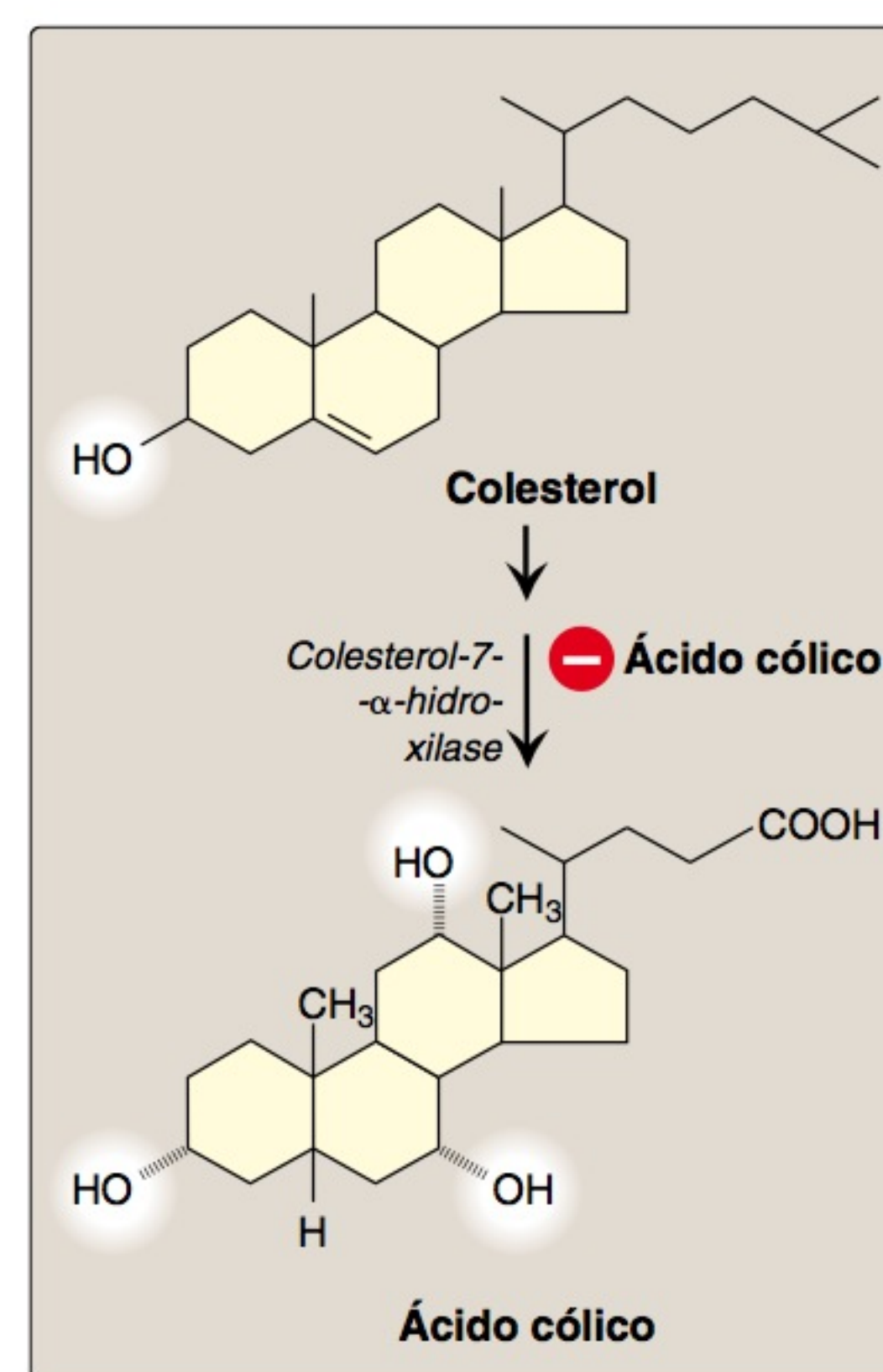


Figura 18.9

Síntese do ácido cólico, um ácido biliar.

D. Ação da flora intestinal sobre os sais biliares

No intestino, bactérias podem remover glicina e taurina dos sais biliares, regenerando os ácidos biliares. Podem também converter alguns dos ácidos biliares primários em ácidos biliares “secundários” pela remoção de um grupo hidroxila, produzindo ácido desoxicólico a partir do ácido cólico e ácido litocólico a partir do ácido quenodesoxicólico (Figura 18.11).

E. Circulação entero-hepática

Os sais biliares secretados no intestino são eficientemente reabsorvidos (mais de 95%) e reutilizados. O fígado converte tanto os ácidos biliares primários quanto os secundários em sais biliares, por meio da conjugação com glicina ou taurina e então os secreta na bile. A mistura de ácidos e sais biliares é absorvida principalmente no íleo, via um cotransportador Na^+ -sal biliar. A seguir, esses compostos são transportados ativamente das células da mucosa intestinal para a circulação porta, sendo eficientemente captados pelos hepatócitos por uma isoforma desse cotransportador. (Nota: ácidos biliares são hidrofóbicos e necessitam de um carregador na circulação porta. Eles são transportados ligados de forma não covalente à albumina, a exemplo do transporte dos ácidos graxos no sangue [veja a p. 181].) O processo contínuo de secreção de sais biliares na bile, sua passagem através do duodeno, onde parte é convertida em ácidos biliares, sua absorção no íleo e seu subsequente retorno ao fígado como uma mistura de ácidos e sais biliares é chamada de circulação entero-hepática (Figura 18.11). O fígado secreta por dia cerca de 15 a 30 g de sais biliares no duodeno, e somente 0,5 g (menos de 3%) é perdido nas fezes. O

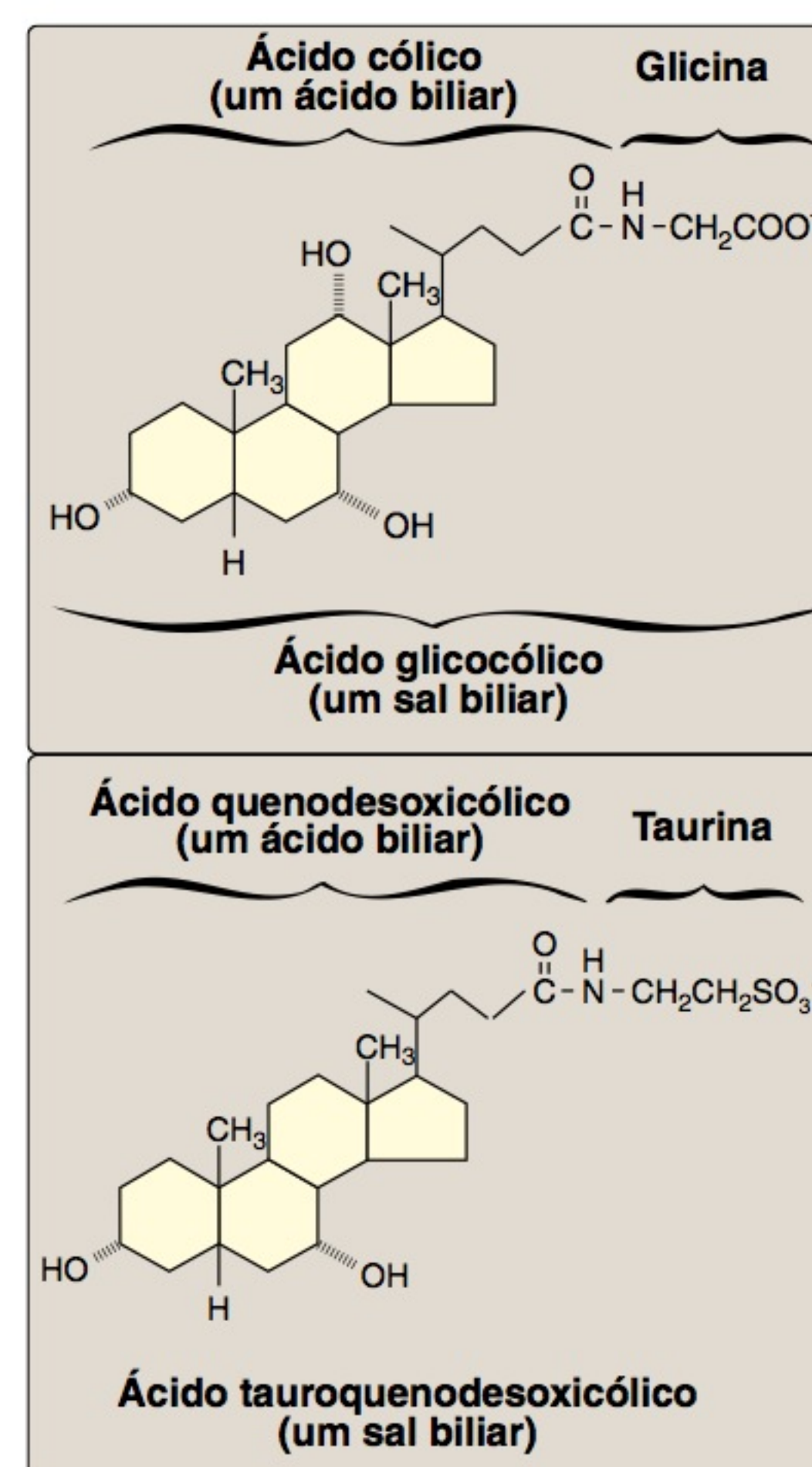
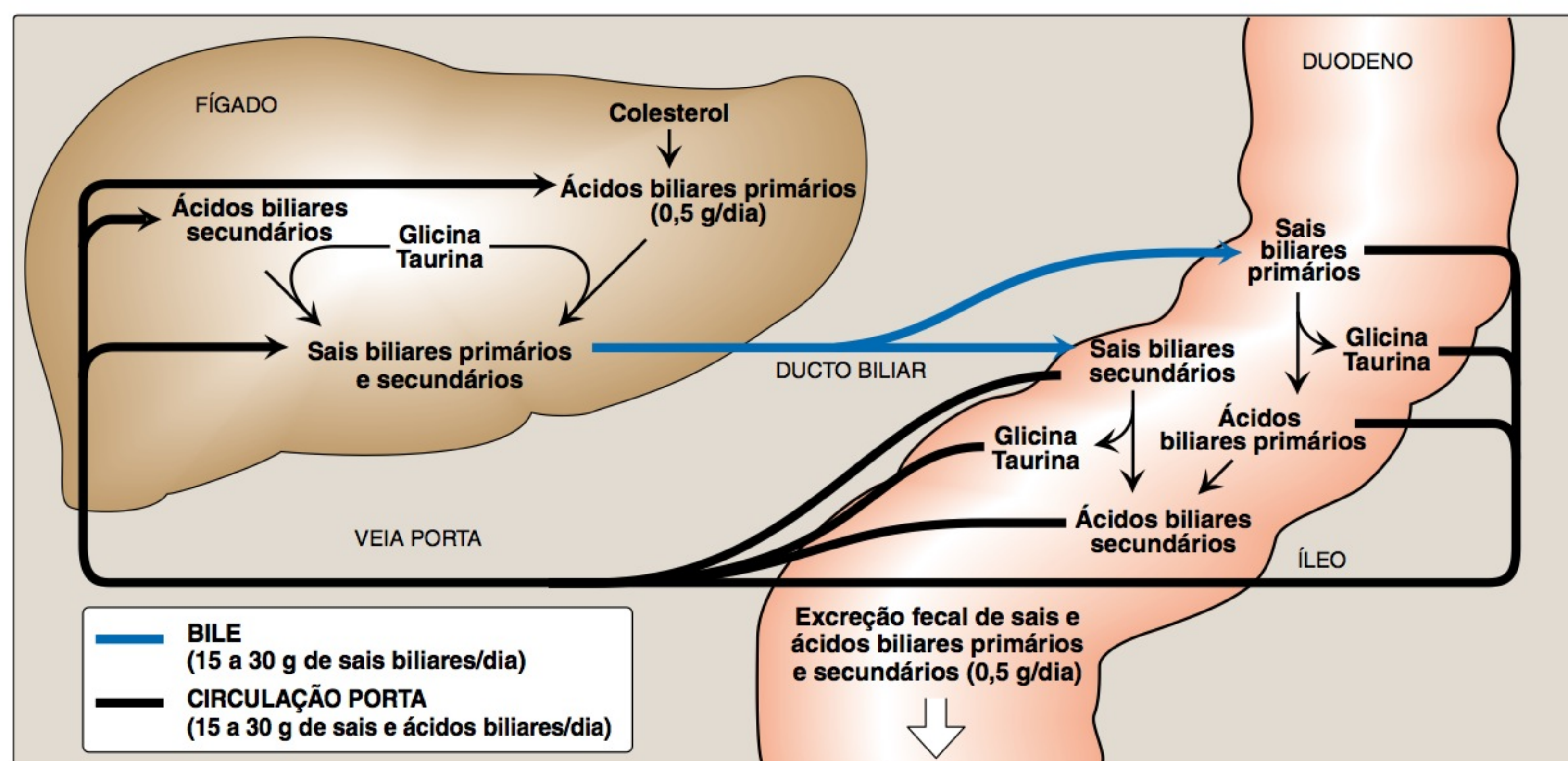


Figura 18.10

Sais biliares. (Observe “cólico” nos nomes dos compostos.)

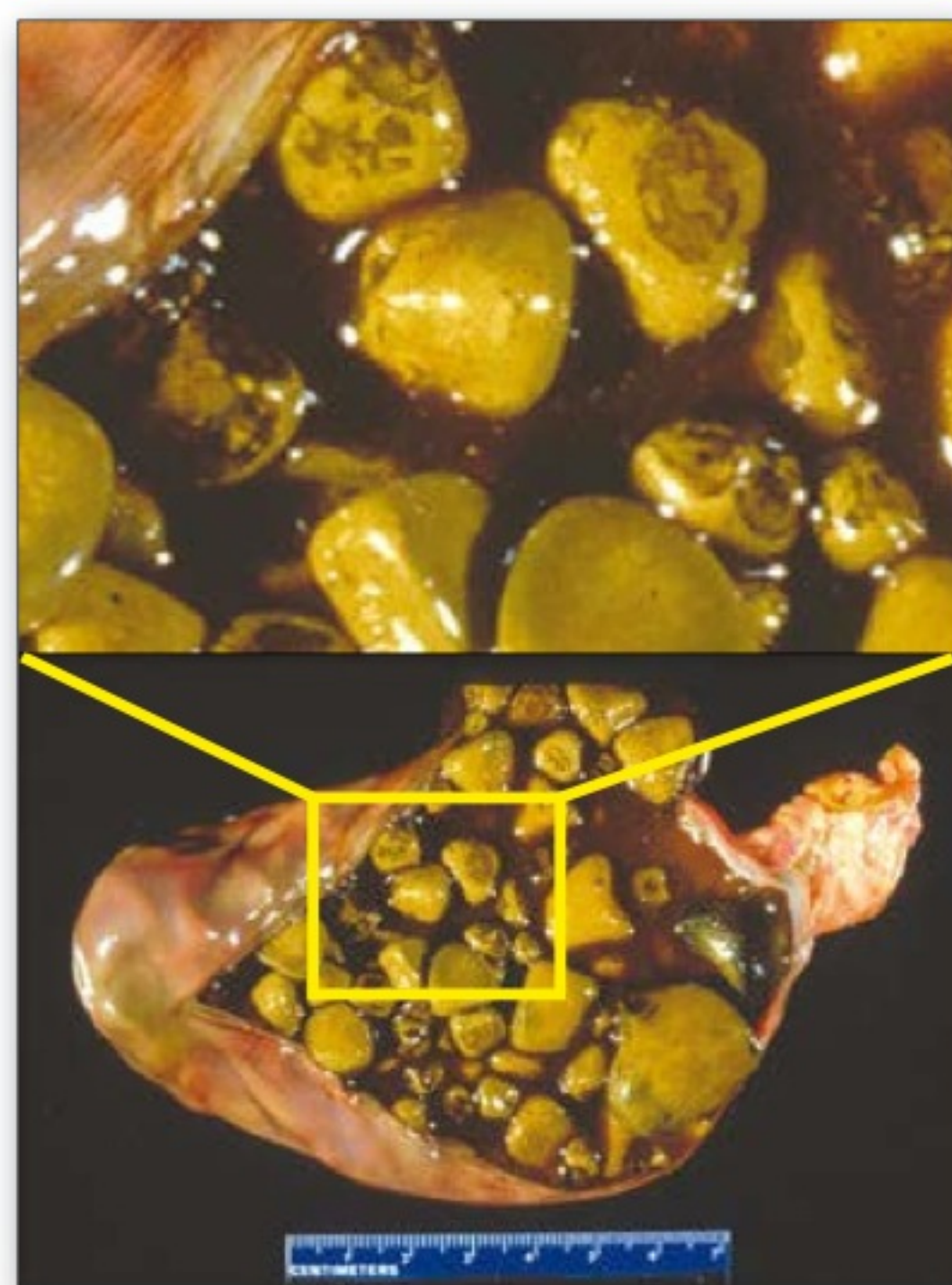
**Figura 18.11**

Circulação entero-hepática dos sais e ácidos biliares.

fígado sintetiza aproximadamente 0,5 g/dia de sais biliares a partir de colesterol para repor a quantidade perdida nas fezes. Sequestradores de ácidos biliares, como a colestiramina, ligam ácidos biliares no intestino, diminuindo sua reabsorção e assim promovendo sua excreção. Essas substâncias são usadas no tratamento da hipercolesterolemia, pois a maior remoção de ácidos biliares libera a inibição sobre a síntese hepática de ácidos biliares, desviando mais colesterol para essa rota. (Nota: fibras presentes na dieta também ligam sais biliares e aumentam a sua excreção.)

F. Deficiência de sais biliares: colelitíase

A passagem do colesterol do fígado para a bile deve ser acompanhada pela secreção simultânea de fosfolípidos e sais biliares. Se a secreção conjunta desses lipídeos for prejudicada, e entrar na bile mais colesterol do que pode ser solubilizado pelos sais biliares e pela fosfatidilcolina presentes, o colesterol pode precipitar na vesícula biliar, iniciando a colelitíase – ou formação de cálculos de colesterol na vesícula (Figura 18.12). Essa doença é causada tipicamente pela diminuição dos ácidos biliares na bile, que pode resultar de: 1) deficiência de absorção de ácidos biliares no intestino, como a observada nos pacientes com doença ílaca grave; 2) obstrução do trato biliar, com interrupção da circulação entero-hepática; 3) disfunção hepática grave, levando à diminuição da síntese de sais biliares, ou outras anormalidades na produção de bile; ou ainda 4) excessiva retroinibição da síntese de ácidos biliares, resultante de uma velocidade acelerada da reciclagem desses ácidos. A colelitíase também pode ter origem no aumento da excreção biliar de colesterol, como a produzida pelo uso de fibratos. (Nota: fibratos, como genfibrozila, são derivados do ácido fibríco e usados para reduzir os níveis sanguíneos de triacilgliceróis, por meio da estimulação da β -oxidação de ácidos graxos.) A colecistectomia laparoscópica (remoção cirúrgica da vesícula biliar por meio de uma pequena incisão) é atualmente o tratamento de escolha. Em pacientes que não podem ser submetidos ao tratamento cirúrgico, a

**Figura 18.12**

Vesícula biliar com cálculos biliares.

administração oral de ácido quenodesoxicólico supre a falta de ácidos biliares e leva a uma gradual (meses até anos) dissolução dos cálculos biliares.

VI. LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

As lipoproteínas plasmáticas são complexos macromoleculares esféricos de lipídeos e proteínas específicas (apolipoproteínas ou apoproteínas). As partículas lipoproteicas incluem os quilomicra (Q), as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), as lipoproteínas de densidade baixa (LDL) e as lipoproteínas de densidade alta (HDL). Elas diferem na composição lipídica e proteica, no tamanho, na densidade (Figura 18.13) e no local de origem. A função das lipoproteínas é tanto manter solúveis seus componentes lipídicos no plasma, como promover um eficiente mecanismo de transporte de lipídeos entre os tecidos. Em humanos, esse sistema de transporte é menos eficiente que em outros animais. Como resultado, pode acontecer uma deposição gradual de lipídeos – especialmente de colesterol – nos tecidos. Essa deposição de lipídeos pode ser um fator potencial de risco, por contribuir para a formação de placas que causam o estreitamento dos vasos sanguíneos (aterosclerose).

A. Composição das lipoproteínas plasmáticas

As lipoproteínas são constituídas por um núcleo de lipídeos neutros (contendo triacilgliceróis e ésteres de colesterol) circundado por uma camada anfipática de apolipoproteínas, fosfolipídeos e colesterol livre (não esterificado) (Figura 18.14). Esses compostos anfipáticos são orientados de forma a expor suas porções polares na superfície da lipoproteína, tornando a partícula solúvel em meio aquoso. Os triacilgliceróis e o colesterol carregados pelas lipoproteínas são obtidos da dieta (fonte exógena) ou da síntese *de novo* (fonte endógena). (Nota: as diferentes lipoproteínas trocam constantemente lipídeos e apolipoproteínas uma com as outras; portanto, a composição em apolipoproteínas e lipídeos de cada classe de partícula é variável.)

1. **Tamanho e densidade das lipoproteínas.** Os quilomicra são a classe de lipoproteínas com a menor densidade e o maior tamanho, e contêm a maior porcentagem de lipídeos e a menor de proteínas. Em ordem crescente de densidade estão as VLDL e LDL, que apresentam uma maior razão proteínas/lipídeos. As partículas de HDL são as mais densas. As lipoproteínas plasmáticas podem ser separadas com base na sua mobilidade eletroforética, como mostrado na Figura 18.15, ou com base na sua densidade, por meio de ultracentrifugação.
2. **Apolipoproteínas.** As apolipoproteínas associadas às lipoproteínas exercem funções diversas: fornecem sítios de reconhecimento para receptores nas superfícies celulares e servem como ativadoras ou coenzimas para enzimas envolvidas no metabolismo das lipoproteínas. Algumas das apolipoproteínas são componentes estruturais essenciais das lipoproteínas e não podem ser removidas (de fato, as partículas não podem ser produzidas sem elas), enquanto outras são transferidas livremente entre as lipoproteínas. As apolipoproteínas podem ser classificadas segundo sua estrutura e função em cinco classes principais, de A até E. As diferentes classes podem ser subdivididas em subclasses, por exemplo, apolipoproteína (ou apo) A-I e apo C-II. (Nota: as funções de todas as apolipoproteínas ainda não são bem conhecidas.)

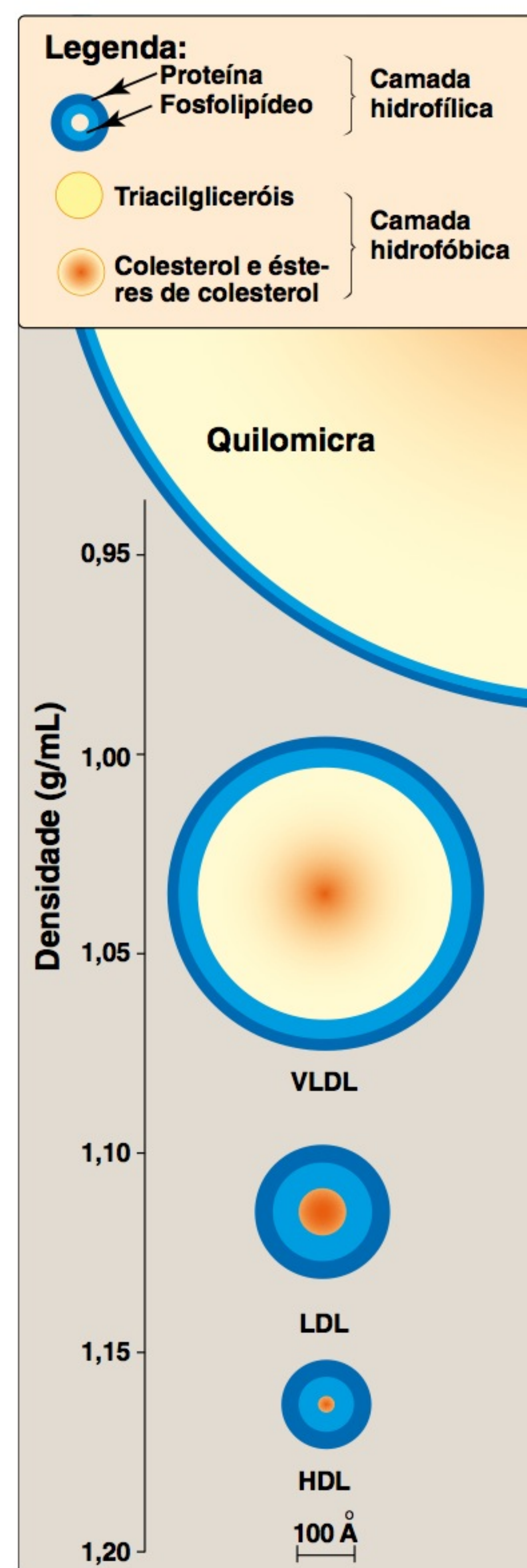


Figura 18.13

Tamanho e densidade aproximados das lipoproteínas plasmáticas. Cada família de lipoproteínas apresenta uma faixa de variação de tamanhos e densidades; esta figura mostra valores típicos. A espessura dos círculos reflete aproximadamente as quantidades de cada componente. (Nota: embora o colesterol e seus ésteres estejam mostrados como componentes no centro de cada partícula, fisicamente o colesterol é componente da superfície, enquanto os ésteres de colesterol estão localizados no interior das lipoproteínas.)

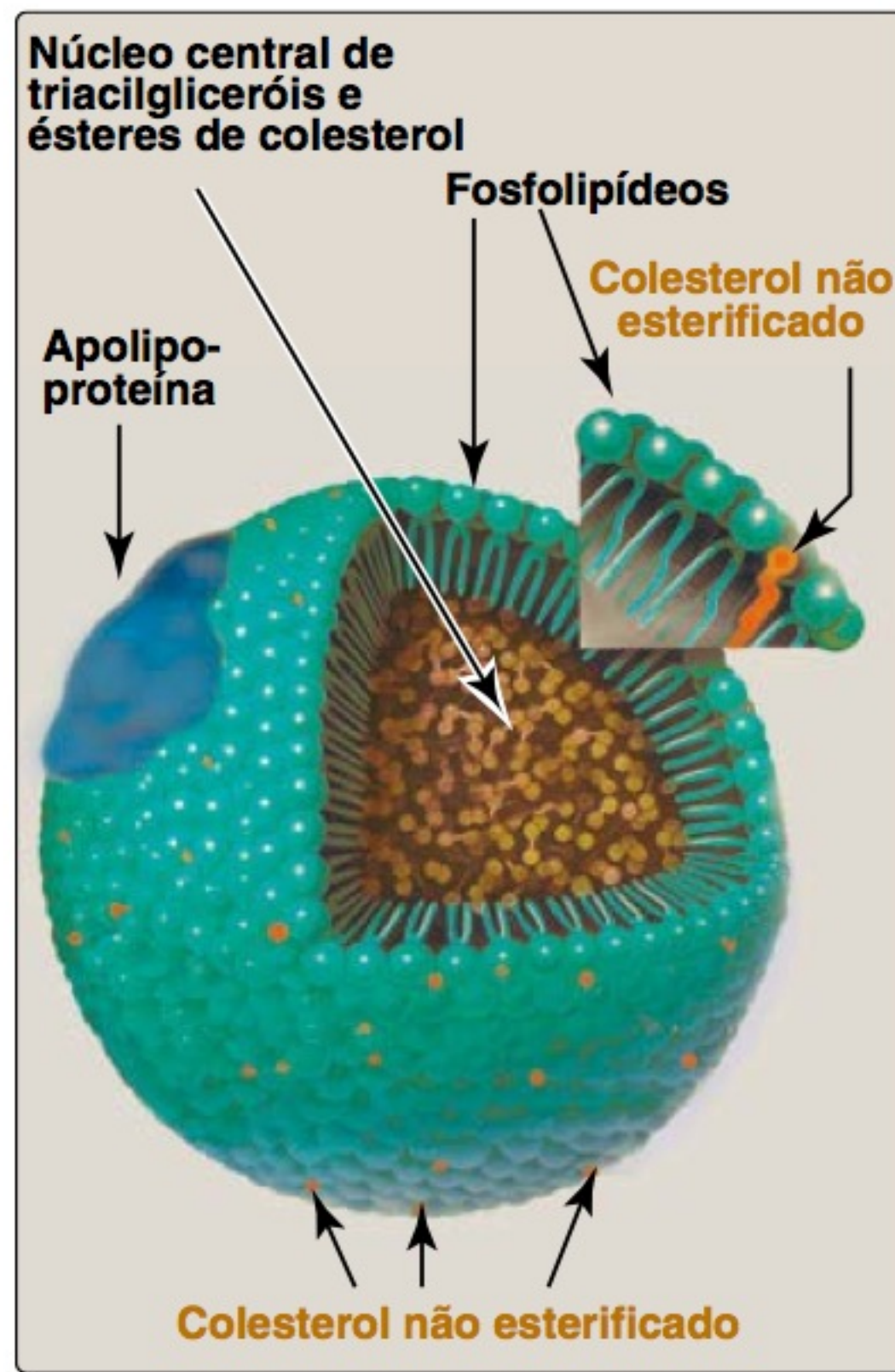


Figura 18.14

Estrutura de uma lipoproteína típica.

B. Metabolismo dos quilomicra

Os quilomicra são formados nas células da mucosa intestinal e transportam triacilgliceróis, colesterol, vitaminas lipossolúveis e ésteres de colesterol da dieta (além de lipídeos sintetizados pelos enterócitos) para os tecidos periféricos (Figura 18.16). (Nota: TAG perfazem cerca de 90% dos lipídeos em um quilomicra.)

1. **Síntese das apolipoproteínas.** A apolipoproteína B-48 é exclusiva dos quilomicra. Sua síntese inicia no retículo endoplasmático rugoso (RER), sendo glicosilada enquanto se move através do RE e do aparelho de Golgi. (Nota: a apo B-48 recebe essa denominação por representar 48% da porção N-terminal da proteína codificada pelo gene apo B. A apo B-100 é sintetizada no fígado e encontrada nas VLDL e LDL, e representa proteína completa codificada pelo gene apo B. Uma modificação pós-transcricional [veja p. 457], trocando uma citosina por uracila no RNAm da apo B-100 intestinal, cria um códon sem sentido [veja a p. 433], permitindo a tradução de somente 48% do RNAm.)
2. **Montagem dos quilomicra.** As enzimas envolvidas na síntese dos triacilgliceróis, do colesterol e dos fosfolípidos estão localizadas no RE liso. A organização das apolipoproteínas e dos lipídeos para formar os quilomicra requer a proteína microssomal transferidora de triacilgliceróis (PMT, veja a p. 178), que carrega a apo B-48 com os lipídeos. Isso ocorre antes da transição do RE para o aparelho de Golgi, onde as partículas são acondicionadas em vesículas secretórias. Essas vesículas fusionam-se com a membrana plasmática, liberando as lipoproteínas no sistema linfático e, posteriormente, no sangue.
3. **Modificação dos quilomicra nascentes.** A partícula liberada pelas células da mucosa intestinal é chamada quilomícron “nascente”, por ser funcionalmente incompleta. Quando alcança o plasma, a partícula é rapidamente modificada, recebendo as apolipoproteínas E (que são reconhecidas por receptores hepáticos) e C. Essas últimas incluem a apo C-II, necessária para a ativação da *lipase lipoproteica*, enzima que degrada os triacilgliceróis dos quilomicra (veja a seguir). A fonte dessas apolipoproteínas é a HDL circulante (veja a Figura 18.16).
4. **Degradação dos triacilgliceróis pela *lipase lipoproteica*.** A *lipase lipoproteica* é uma enzima extracelular ancorada por heparan sulfato à parede dos capilares da maioria dos tecidos, mas predominantemente nos tecidos adiposo e muscular cardíaco e esquelético. O fígado adulto não tem essa enzima. (Nota: a *lipase hepática* é encontrada na superfície das células endoteliais hepáticas. Essa enzima tem ação na degradação dos triacilgliceróis dos quilomicra e VLDL, e é particularmente importante no metabolismo das HDL [veja a p. 236].) A *lipase lipoproteica*, ativada pela apo C-II das lipoproteínas circulantes, hidrolisa os triacilgliceróis carregados por essas partículas, formando ácidos graxos livres e glicerol. Os ácidos graxos são armazenados (no adipócito) ou usados para gerar energia (no músculo). Se não forem imediatamente captados pelas células, os ácidos graxos de cadeia longa são transportados pela albumina sérica até que sua captação ocorra. O glicerol é usado pelo fígado, por exemplo, na síntese de lipídeos, na glicólise ou na gliconeogênese. (Nota: pacientes com deficiência de *lipase lipoproteica* ou de apo

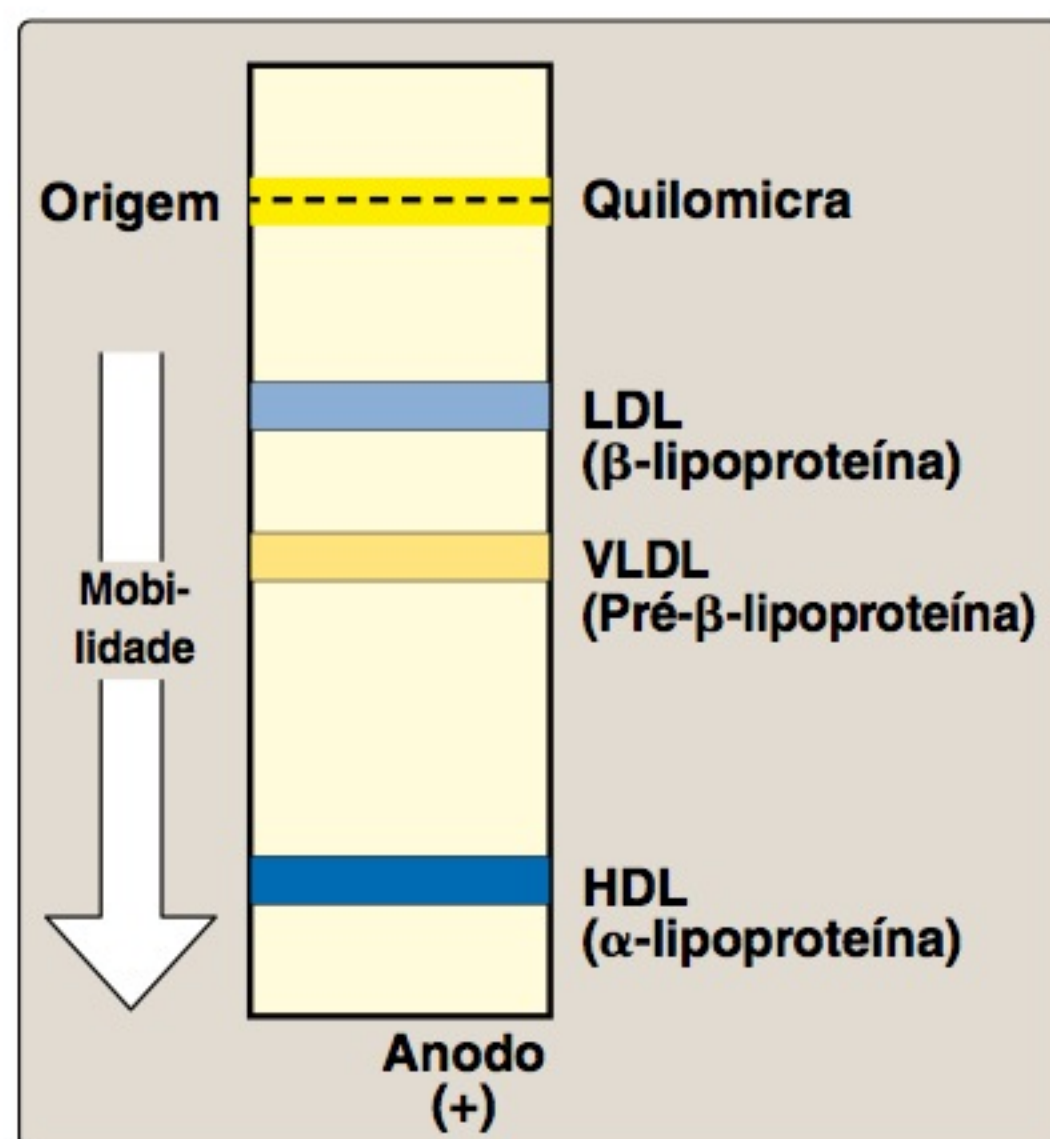


Figura 18.15

Mobilidade eletroforética das lipoproteínas plasmáticas. Quando a técnica de separação utilizada é a ultracentrifugação, a ordem para LDL e VLDL é invertida em relação à eletroforese.

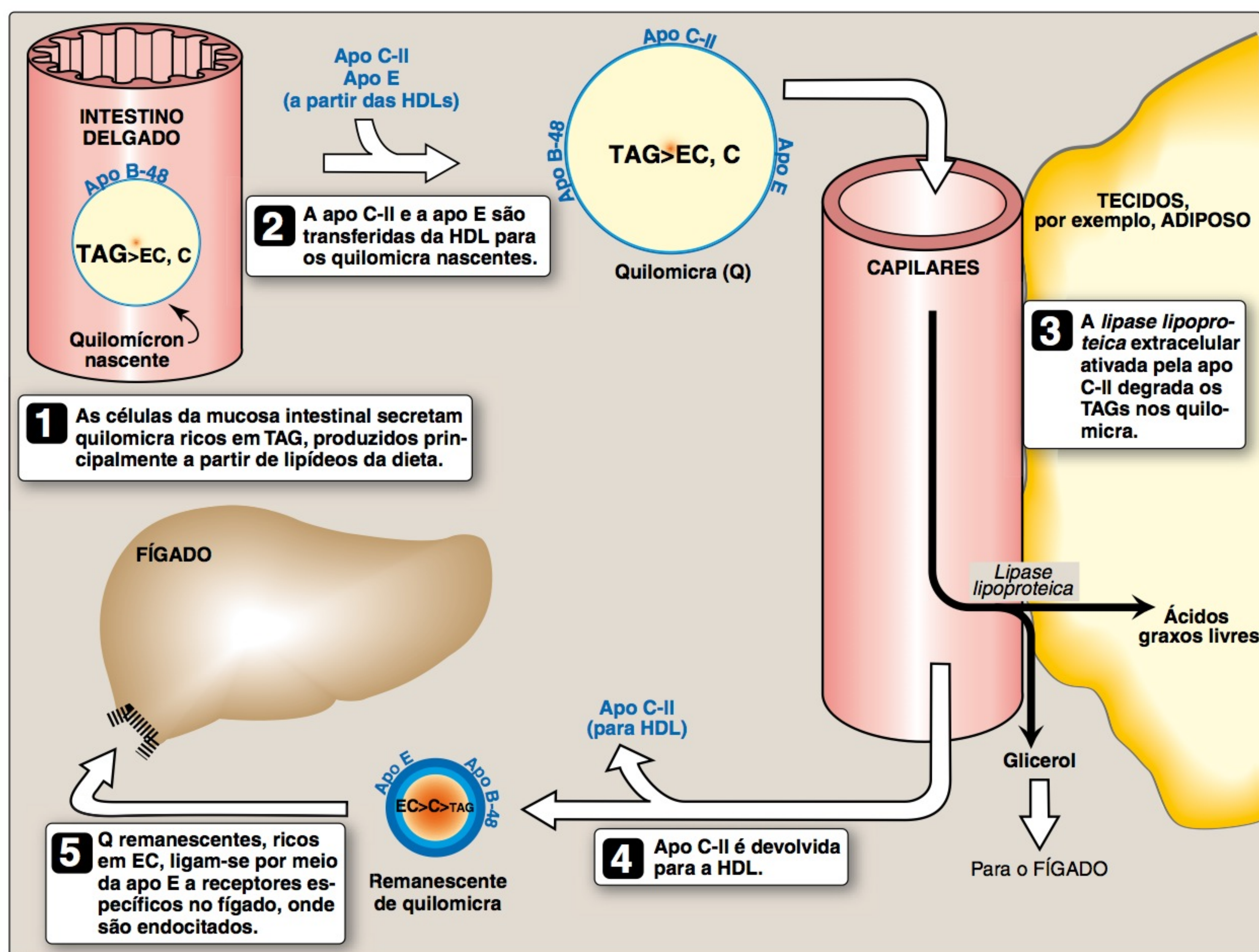


Figura 18.16

Metabolismo dos quilomícrons. Q = quilomícron; TAGs = triacilgliceróis; C = colesterol; EC = éster de colesterol; apoB-48, apo C-II e apo E são apolipoproteínas encontradas como componentes específicos das lipoproteínas plasmáticas. As lipoproteínas não estão desenhadas em escala (veja a Figura 18.13 para detalhes acerca do tamanho e da densidade das lipoproteínas).

C-II [hiperlipoproteinemia do tipo I ou deficiência familiar de *lipase lipoproteica*] apresentam um grande acúmulo [1.000 mg/dL ou mais] de TAG-quilomícron no plasma [hipertriacilglicerolemia], mesmo no jejum.)

5. **Regulação da atividade da *lipase lipoproteica*.** A síntese e a transferência da *lipase lipoproteica* para a superfície luminal dos capilares é estimulada pela insulina (ou seja, estado alimentado, veja a p. 321). Além disso, isômeros da *lipase lipoproteica* têm diferentes valores de K_m para triacilglicerol (semelhante às enzimas *hexocinase* / *glicocinase*, veja a p. 98). Por exemplo, a enzima dos adipócitos tem K_m maior (veja a p. 59), favorecendo a remoção dos ácidos graxos das lipoproteínas circulantes e seu armazenamento como triacilgliceróis somente quando a concentração plasmática de lipoproteínas estiver elevada. Por outro lado, a *lipase lipoproteica* do músculo cardíaco tem K_m menor, permitindo que o coração tenha acesso contínuo aos combustíveis circulantes, mesmo quando a concentração plasmática de lipoproteínas é

baixa. (Nota: a concentração mais alta de *lipase lipoproteica* no músculo cardíaco reflete a importância dos ácidos graxos como fonte de energia nesse tecido.)

6. **Formação dos remanescentes de quilomicra.** Quando mais de 90% dos triacilgliceróis do quilomicra foram degradados pela *lipase lipoproteica*, a partícula diminui de tamanho e aumenta em densidade. Além disso, as apoproteínas C (mas não a apo E) retornam para as HDL. A partícula resultante, chamada “remanescente” de quilomicra, é rapidamente removida da circulação pelo fígado, cujas células contêm receptores para lipoproteínas que reconhecem a apo E (Figura 18.16). Os remanescentes de quilomicra ligam-se nesses receptores e são captados pelos hepatócitos por endocitose. Em seguida, ocorre a fusão das vesículas endocíticas com lisossomos. As apolipoproteínas, os ésteres de colesterol e os outros componentes dos remanescentes de quilomicra endocitados são degradados por hidrólise, liberando aminoácidos, colesterol livre e ácidos graxos. O receptor é reciclado. (Uma discussão mais detalhada do mecanismo de endocitose mediada por receptores é ilustrada para LDL na Figura 18.20.)

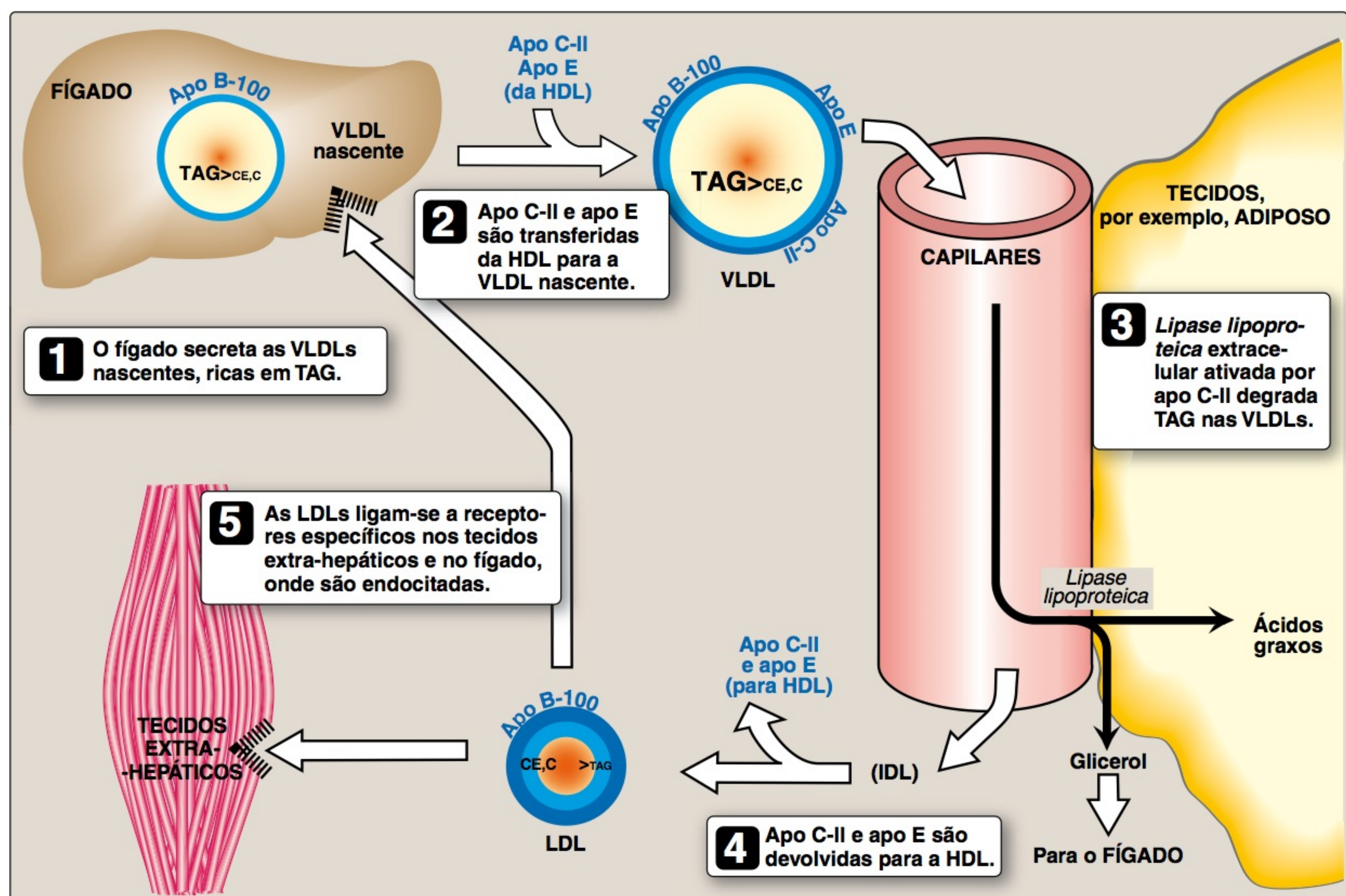


Figura 18.17

Metabolismo da VLDL e da LDL. TAG = triacilglicerol; VLDL = lipoproteína de densidade muito baixa; LDL = lipoproteína de densidade baixa; IDL = lipoproteína de densidade intermediária; C = colesterol; EC = éster de colesterol. Apo B-100, apo C-II e apo E são apolipoproteínas encontradas como componentes específicos das lipoproteínas plasmáticas. As lipoproteínas não estão desenhadas em escala (veja a Figura 18.13 para detalhes acerca do tamanho e da densidade das lipoproteínas).

C. Metabolismo das VLDL

As VLDL são produzidas no fígado (Figura 18.17) e são compostas predominantemente de triacilgliceróis endógenos (aproximadamente 60%). Sua função é carregar esse lipídeo do fígado (local de síntese) para os tecidos periféricos, onde os triacilgliceróis são degradados pela *lipase lipoproteica*, como já discutido para os quilomicra (veja a p. 228). (Nota: o “fígado graxo” (esteatose hepática) ocorre em condições em que existe desequilíbrio entre a síntese hepática de triacilgliceróis e a secreção de VLDL. Essas condições incluem obesidade, diabetes melito não controlada e ingestão crônica de etanol.)

- 1. Liberação das VLDL.** As VLDL são secretadas, pelo fígado, diretamente no sangue como partículas de VLDL “nascentes” contendo apo B-100. Elas obtêm apo C-II e apo E da HDL circulante (Figura 18.17). Como acontece com os quilomicra, a apo C-II é necessária para a ativação da *lipase lipoproteica*. (Nota: abetalipoproteinemia é um tipo raro de hipolipoproteinemia causada por um defeito na proteína microsomal transferidora de triacilgliceróis (PTM), que impede o carregamento da apo B com lipídeos. Como consequência, não existe formação dos quilomicra e das VLDL, o que causa acúmulo de triacilgliceróis no fígado e no intestino.)
- 2. Modificação das VLDL circulantes.** Na circulação, os triacilgliceróis das VLDL são degradados pela *lipase lipoproteica*, ficando essas partículas menores e mais densas. Componentes de superfície, incluindo as apolipoproteínas C e E, retornam para as HDL, mas as partículas retêm a apo B-100. Por fim, alguns triacilgliceróis são transferidos das VLDL para as HDL em uma reação de troca que, simultaneamente, transfere ésteres de colesterol das HDL para as VLDL. Essa troca é mediada pela *proteína transferidora de ésteres de colesterol* (PTEC, Figura 18.18).
- 3. Produção de LDL a partir de VLDL no plasma.** Com as modificações já descritas anteriormente, as VLDL são convertidas, no plasma, em LDL. Durante essa transição, são observadas partículas de tamanho intermediário, as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) ou “remanescentes” de VLDL. As IDL também podem ser captadas pelas células, por endocitose mediada por receptor que usa apo E como ligante. (Nota: a apo E é normalmente encontrada em três isoformas, E-2, E-3 e E-4. A apo E-2 tem pouca afinidade pelos receptores, e pacientes homozigotos para apo E-2 apresentam deficiência na depuração dos remanescentes de quilomicra e IDL. Esses indivíduos têm hipolipoproteinemia familiar tipo III (disbetalipoproteinemia familiar ou doença beta larga) e apresentam hipercolesterolemia e aterosclerose prematura. Por um mecanismo ainda não esclarecido, a isoforma E-4 aumenta a suscetibilidade à doença Alzheimer, induzindo o aparecimento precoce da forma de início tardio da doença e duplicando sua prevalência.)

D. Metabolismo das LDL

As LDL contêm muito menos triacilgliceróis que suas precursoras VLDL e têm alta concentração de colesterol e ésteres de colesterol (Figura 18.19).

- 1. Endocitose mediada por receptores.** A principal função das LDL é prover colesterol para os tecidos periféricos (ou retorná-lo para o fígado). As LDL ligam-se a receptores na membrana celular específicos para LDL, que reconhecem a apo B-100 (mas não a apo B-48). Como esses receptores também reconhecem a apo E, eles

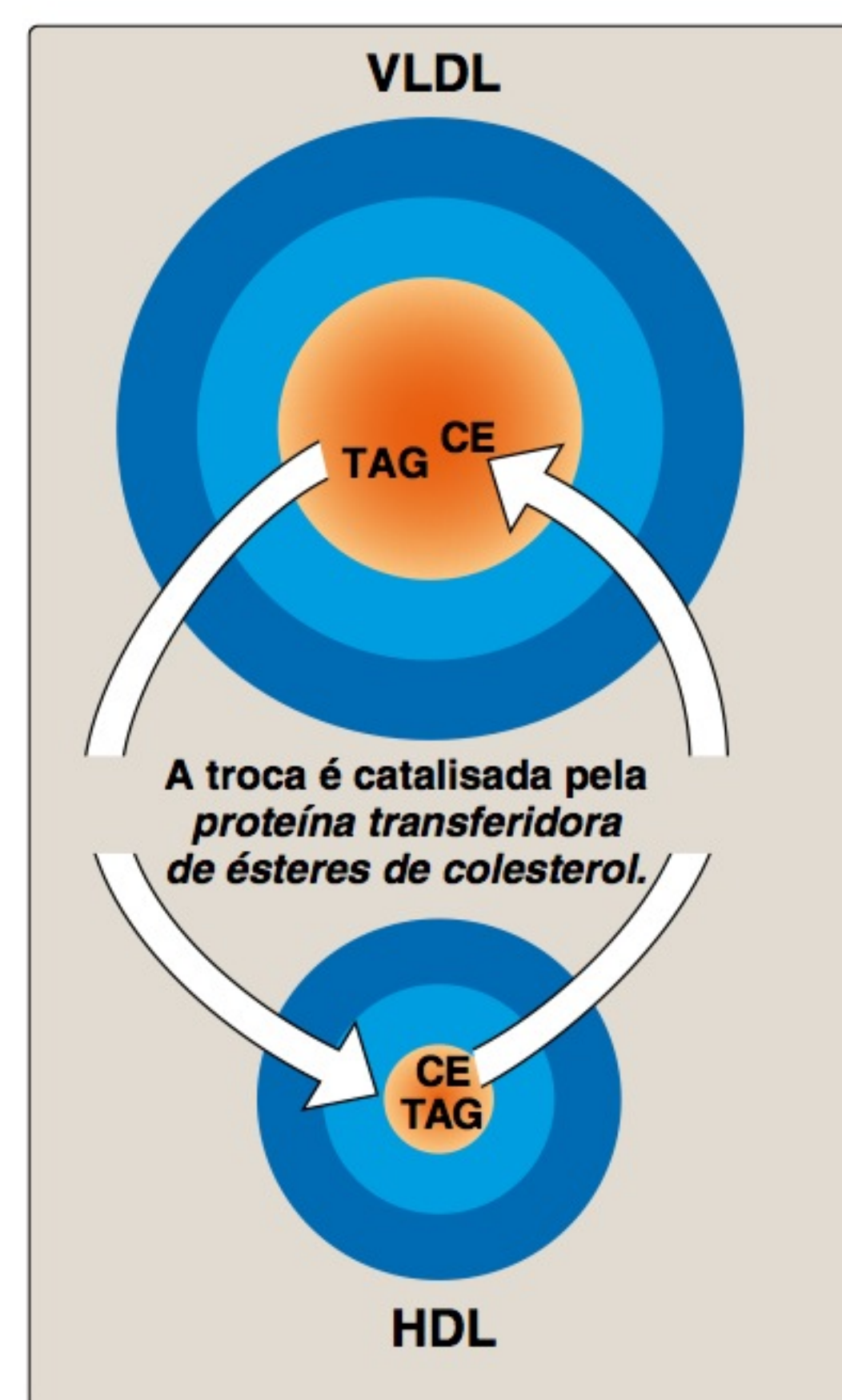


Figura 18.18

Transferência de ésteres de colesterol (EC) de HDL para VLDL, trocando-os por triacilglicerol (TAG).

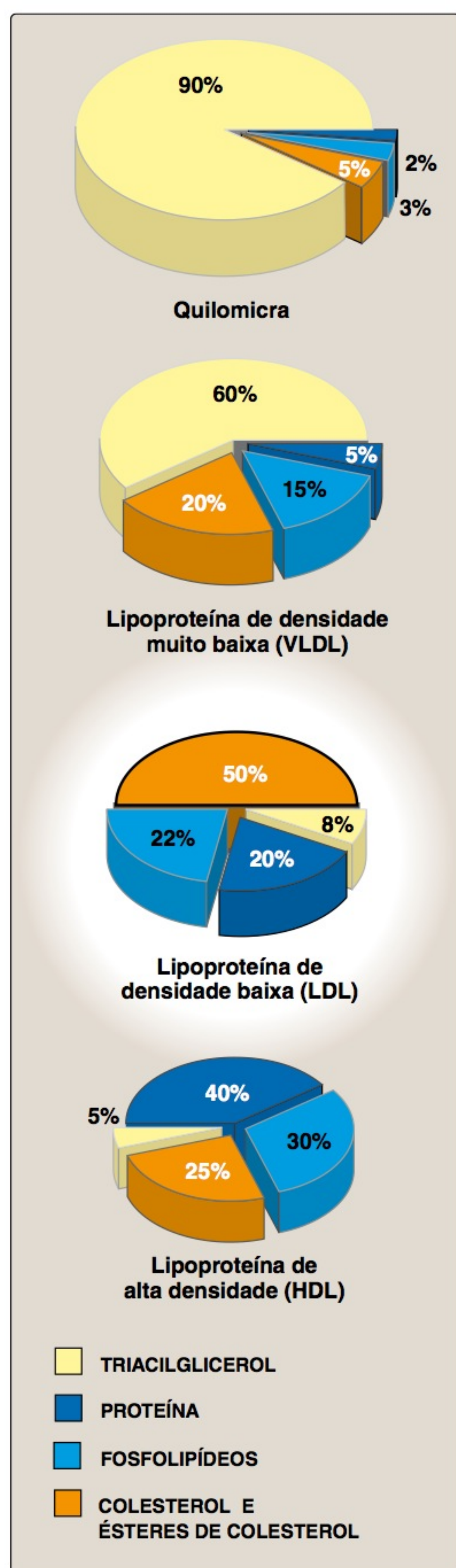


Figura 18.19

Composição das lipoproteínas plasmáticas. Note a alta concentração do colesterol e estéres de colesterol nas LDLs.

são conhecidos como receptores apo B-100 / apo E. A Figura 18.20 resume os mecanismos de captação e degradação das LDL. (Nota: os números entre colchetes, a seguir, correspondem aos que aparecem na figura.) Um mecanismo semelhante de endocitose mediada por receptor é usado na captação e degradação dos remanescentes de quilomicra e IDL pelas células do fígado.

- [1] Receptores de LDL são glicoproteínas carregadas negativamente que formam aglomerados em depressões na membrana celular. O lado citosólico da depressão é recoberto com a proteína clatrina, que estabiliza o formato das depressões.
- [2] Depois da ligação, o complexo LDL-receptor é internalizado por endocitose. (Nota: a deficiência de receptores funcionais de LDL causa uma elevação significativa nos níveis circulantes de LDL e, por consequência, do colesterol plasmático. Pacientes com essa deficiência apresentam hiperlipidemia tipo II [hipercolesterolemia familiar] e aterosclerose prematura. A hipercolesterolemia familiar também pode ser causada pelo aumento da atividade de uma *protease* que degrada o receptor e por defeitos na apo-B100, os quais reduzem a ligação da LDL ao receptor.)
- [3] A vesícula contendo LDL perde a capa de clatrina e funde-se a outras vesículas semelhantes, formando grandes vesículas chamadas endossomos.
- [4] O pH dos endossomos diminui (devido à atividade da bomba de prótons da *ATPase* endossomal), o que faz com que a LDL se desligue de seu receptor. Os receptores migram então para um dos lados do endossomo, enquanto as LDL permanecem livres no lúmen da vesícula. (Nota: essa estrutura é chamada CDRL – compartimento de desacoplamento do receptor e ligante.)
- [5] Os receptores podem ser reciclados, enquanto as lipoproteínas remanescentes nas vesículas são transferidas para lisossomos e degradadas pelas *hidrolases ácidas* lisossomais, liberando colesterol livre, aminoácidos, ácidos graxos e fosfolípidos. Esses compostos podem ser reutilizados pela célula. (Nota: foram identificadas doenças de armazenamento causadas por raras deficiências autossômicas recessivas na capacidade de hidrólise lisossomal dos ésteres de colesterol [Doença de Wolman] ou no transporte do colesterol não esterificado para fora do lisossomo [Doença de Niemann-Pick, tipo C].)

2. **Efeitos do colesterol endocitado sobre a homeostasia celular do colesterol.** O colesterol originário dos remanescentes de quilomicra e das IDL e LDL afeta o conteúdo celular de colesterol de várias maneiras (Figura 18.20). Primeiro, a *HMG-CoA-redutase* é inibida por altos níveis de colesterol e, como resultado, a síntese *de novo* de colesterol diminui. Segundo, a síntese de novos receptores para LDL é reduzida, devido à menor expressão do gene do receptor de LDL, limitando assim a entrada de colesterol-LDL nas células. (Nota: a regulação do gene do receptor para LDL envolve um ERE e uma PLERE [PLERE-2], semelhante ao que foi visto na regulação do gene da *HMG-CoA-redutase* [veja a p. 222].) Tercei-

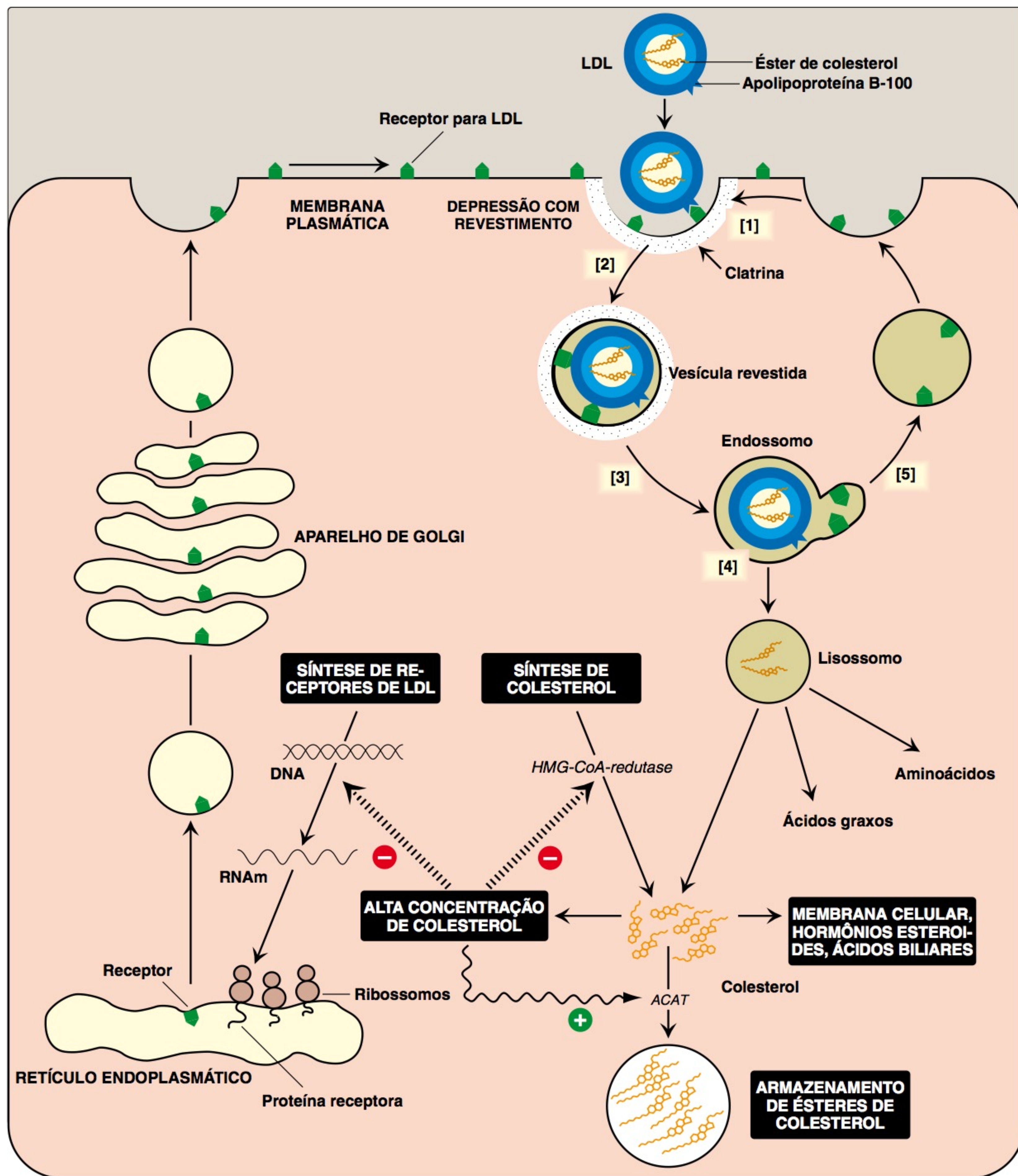
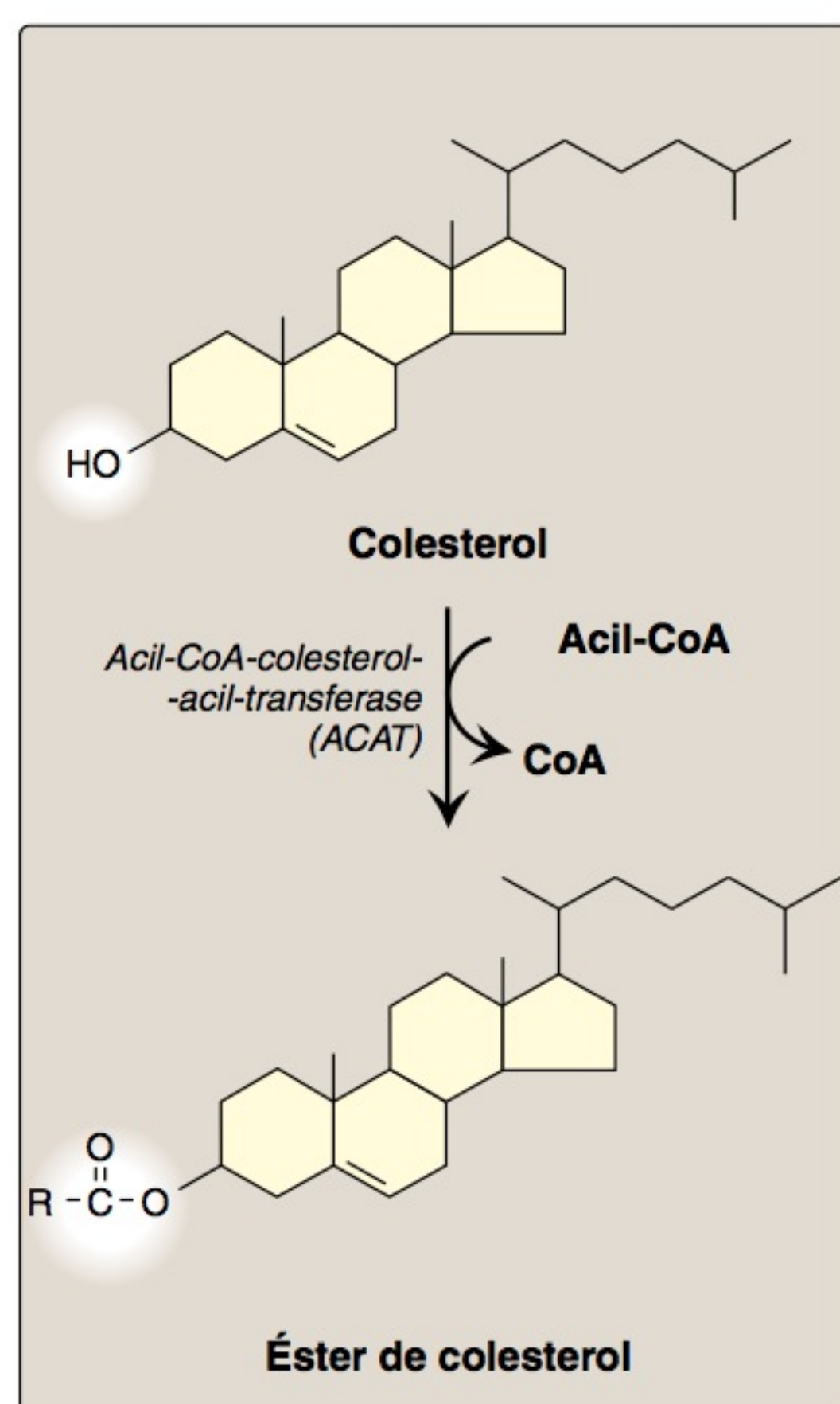


Figura 18.20

 Captação e degradação celular da LDL. ACAT= *acil-CoA:colesterol-aciltransferase*.

**Figura 18.21**

Síntese intracelular de ésteres de colesterol pela ACAT.

ro, se não existe necessidade imediata de colesterol para funções estruturais ou para síntese de substâncias derivadas de colesterol, ele é esterificado pela *acil-CoA:colesterol-aciltransferase* (ACAT). A ACAT transfere um ácido graxo de uma acil-CoA para o colesterol, produzindo um éster de colesterol que pode ser armazenado na célula (Figura 18.21). A atividade da ACAT é estimulada pelo aumento do colesterol intracelular.

- 3. Captação das LDL quimicamente modificadas pelos receptores “removedores” (*scavenger*) nos macrófagos.** Além da captação altamente específica e regulada das LDL, que é mediada por receptores, como já foi descrito, os macrófagos possuem altos níveis de um receptor “removedor”. Esses receptores, conhecidos como receptores “removedores” classe A (RR-A), podem reconhecer uma grande variedade de substâncias e intermediar a endocitose das LDL quimicamente modificadas, nas quais os componentes lipídicos ou a apo B estão oxidados. Ao contrário do receptor para LDL, a expressão do receptor “removedor” não é regulada pelo aumento dos níveis intracelulares de colesterol. Assim, ésteres de colesterol se acumulam nos macrófagos, causando sua transformação em “células espumosas”, as quais participam da formação da placa aterosclerótica (Figura 18.22).

E. Metabolismo das HDL

As HDL são uma família heterogênea de lipoproteínas, com metabolismo complexo e ainda não completamente compreendido. As HDL são formadas no sangue por adição de lipídeos à apo A-1, uma apoproteína sintetizada pelo fígado e pelo intestino e secretada no sangue. A apo A-1 perfaz cerca de 70% das apoproteínas das HDL. As HDL desempenham muitas funções importantes, incluindo as descritas a seguir:

- 1. As HDL são um reservatório de apolipoproteínas.** As HDL servem de reservatório circulante de apo C-II (a apolipoproteína que é transferida para as VLDL e os quilomicra, para atuar como ativadora da *lipase lipoproteica*) e de apo E (a apolipoproteína necessária para a endocitose mediada por receptor das IDL e dos remanescentes de quilomicra).
- 2. Captação de colesterol não esterificado pelas HDL.** As HDL nascentes têm forma discoide, contendo principalmente fosfolipídeos (basicamente fosfatidilcolina) e as apolipoproteínas A, C e E. Elas captam o colesterol dos tecidos extra-hepáticos (periféricos) e o transportam novamente para o fígado como éster de colesterol (Figura 18.23). (Nota: as HDL são excelentes aceptores de colesterol não esterificado por possuírem alta concentração de fosfolipídeos, que agem solubilizando o colesterol.)
- 3. Esterificação do colesterol.** Quando o colesterol é captado pelas HDL, ele é imediatamente esterificado pela enzima *lecitina:colesterol-aciltransferase* presente no plasma (*LCAT*, também conhecida como *PCAT*, onde o “P” significa fosfatidilcolina). Essa enzima é sintetizada pelo fígado. A *LCAT* liga-se às HDL nascentes e é ativada pela apo A-1. A *LCAT* transfere o ácido graxo do carbono 2 da fosfatidilcolina para o colesterol. Os produtos resultantes são um éster de colesterol hidrofóbico, que é sequestrado no núcleo da HDL, e lisofosfatidilcolina, que se liga à albumina. (Nota: a esterificação mantém um gradiente de concentração de colesterol, permitindo o fluxo contínuo de colesterol para a HDL.) À medida que as HDL nascentes discoidais acumulam ésteres de

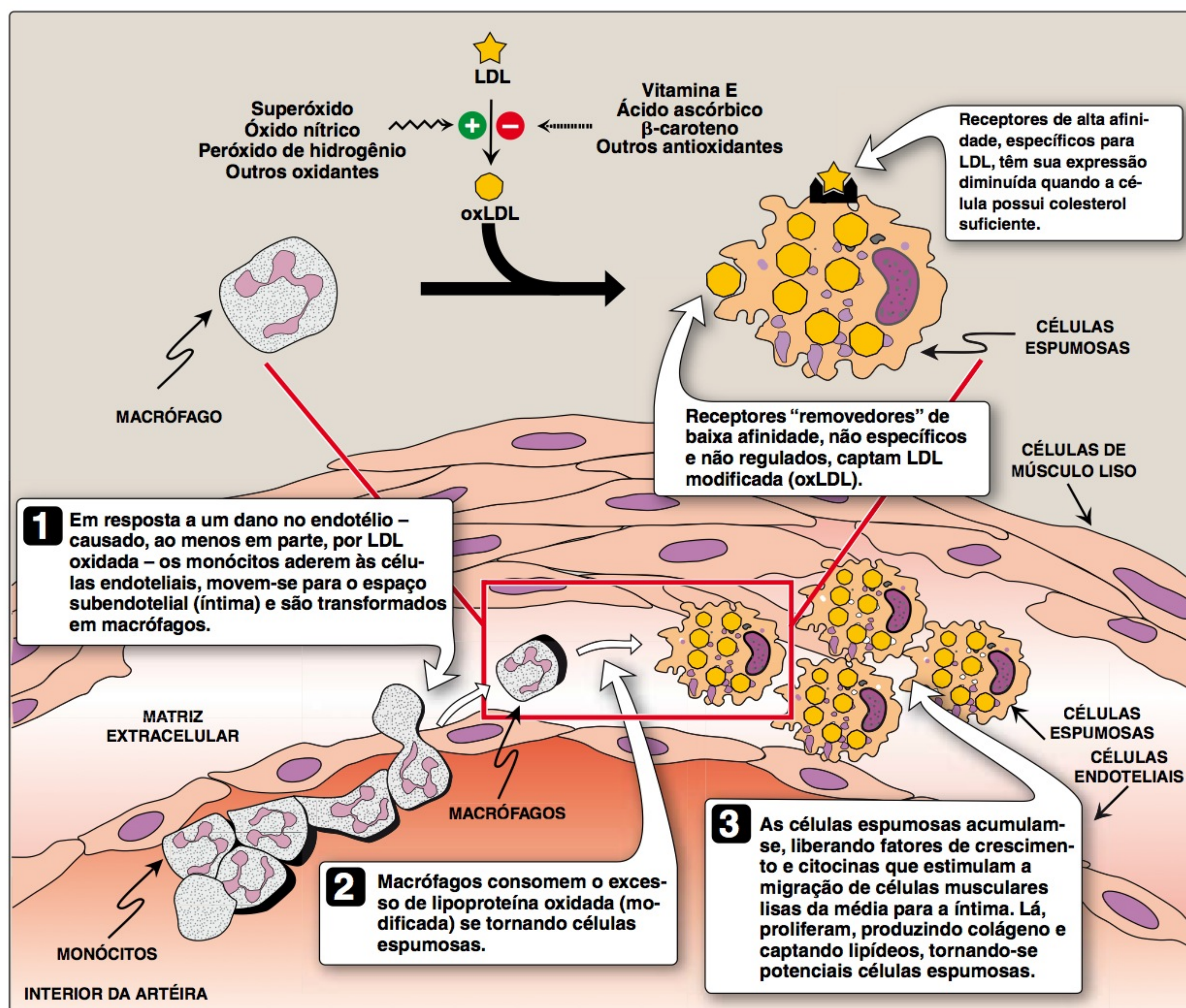
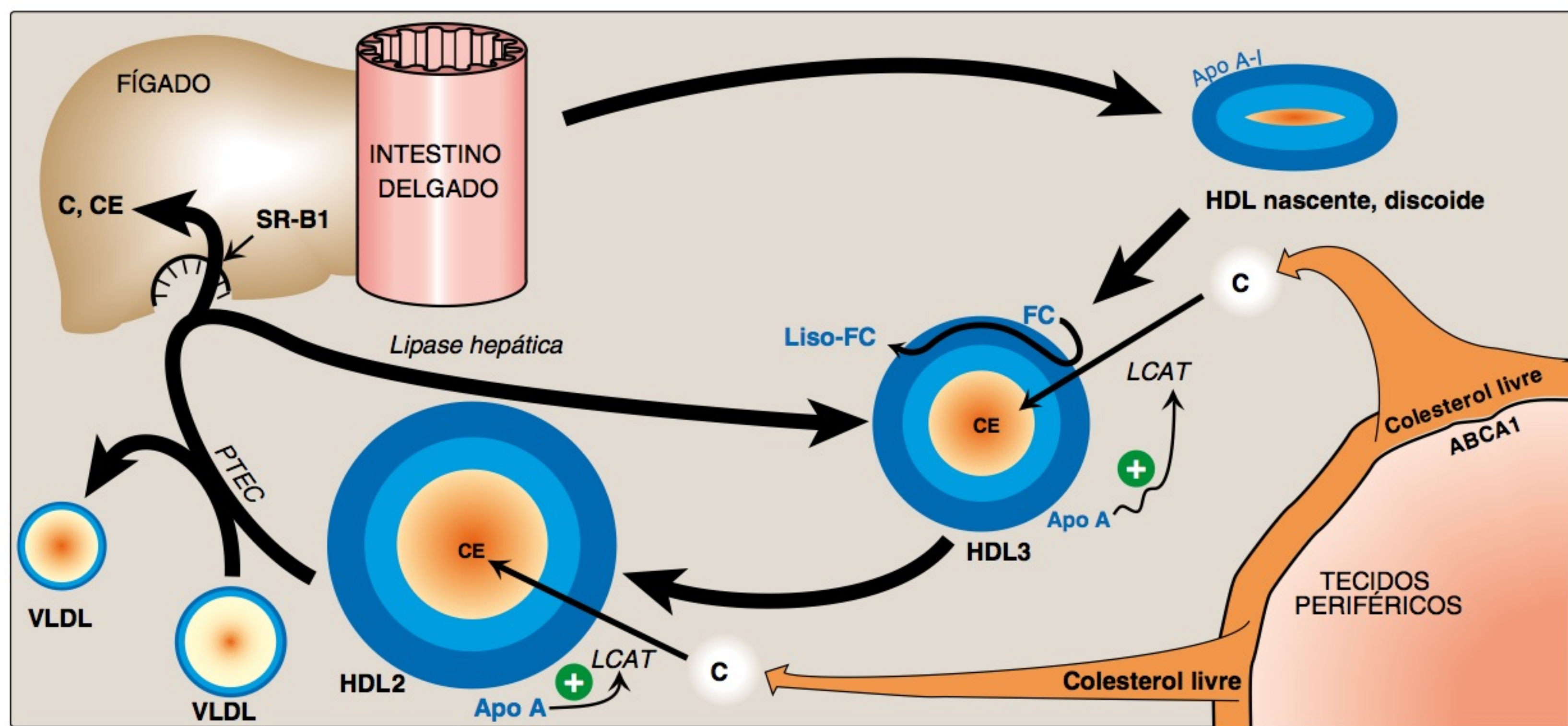


Figura 18.22

Papel das lipoproteínas oxidadas na formação da placa na parede da artéria.

colesterol, elas transformam-se de início em HDL3, partículas esféricas, relativamente pobres em ésteres de colesterol, e, por fim, passam a ser classificadas como HDL2, partículas ricas em ésteres de colesterol e que transportam esses ésteres para o fígado. A *proteína transferidora de ésteres de colesterol* (PTEC, veja p. 231) transfere alguns deles das HDL para as VLDL em uma permuta por triacilgliceróis, diminuindo a inibição por produto da LCAT. Como as VLDL são catabolizadas a LDL, os ésteres de colesterol são por fim captados pelo fígado.

- 4. Transporte reverso de colesterol.** A transferência seletiva do colesterol dos tecidos periféricos para as HDL e das HDL para o fígado (para a síntese de ácidos biliares ou para descarte via bile) e/ou para os tecidos esteroideogênicos (para síntese de hormônios) é um processo crucial na homeostasia do colesterol. Essa é, em parte, a base da relação inversa existente entre a concentração plasmática de HDL e a aterosclerose, e também para a designação das HDL como o “bom” colesterol. O transporte reverso do

**Figura 18.23**

Metabolismo das HDL. FC = Fosfatidilcolina; liso-FC = lisofosfatidilcolina; LCAT = *lecitina-colesterol-aciltransferase*; PTEC = proteína transferidora de ésteres de colesterol; ABCA1 = proteína transportadora. (Nota: por conveniência, as VLDL são mostradas em tamanho menor que as HDL, quando na verdade as VLDL são maiores que as HDL.)

colesterol envolve o efluxo de colesterol dos tecidos periféricos para as HDL, a esterificação do colesterol pela LCAT, a ligação das HDL ricas em ésteres de colesterol (HDL2) a células hepáticas e esteroidogênicas, a transferência seletiva dos ésteres de colesterol para dentro dessas células, e a liberação das HDL depletadas de lipídeo (HDL3). O efluxo do colesterol das células periféricas é, ao menos em parte, mediado pela proteína transportadora, ABCA1. (Nota: a doença de Tangier é uma deficiência muito rara de ABCA1, caracterizada pela ausência praticamente total de HDL devido à degradação das apo A-1 pobres em lipídeos.) A captação de ésteres de colesterol pelo fígado é mediada por receptores da superfície celular, SR-B1 (receptor “removedor” [scavenger] classe B tipo 1), que ligam as HDL (veja a p. 234 para RR-A). Ainda não está esclarecido se a própria partícula de HDL é captada e os ésteres de colesterol extraídos, sendo então a HDL, agora pobre em lipídeos, liberada novamente no sangue, ou se existe somente a captação seletiva dos ésteres de colesterol. (Nota: a *lipase hepática*, que degrada triacilgliceróis e fosfolipídeos, também participa da conversão das HDL2 em HDL3.)

A ABCA1 é uma proteína ligadora de ATP (ABC, do inglês para *ATP-binding cassette*). As proteínas ABC usam energia da hidrólise do ATP para transportar materiais, incluindo lipídeos, para dentro e para fora das células e através dos compartimentos intracelulares. Além da doença de Tangier, defeitos em proteínas ABC específicas resultam na adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo X, na síndrome da angústia respiratória (devida à diminuição da secreção de surfactantes) e na fibrose cística.

F. Papel da lipoproteína (a) na doença cardíaca

A lipoproteína (a), ou Lp(a), é uma partícula que, quando presente em grandes quantidades no plasma, está associada com o aumento do risco de doença coronariana. A Lp(a) tem estrutura quase idêntica à de uma partícula de LDL. O que diferencia as duas lipoproteínas é a presença, na Lp(a), de uma apolipoproteína adicional chamada apo(a), covalentemente ligada a um sítio da apo B-100. Os níveis circulantes de Lp(a) são determinados principalmente por fatores genéticos. Fatores como a dieta, no entanto, podem ter alguma influência, pois ácidos graxos trans aumentam a concentração de Lp(a), enquanto estrógenos diminuem tanto a LDL quanto a Lp(a). (Nota: existe uma homologia estrutural entre a apo(a) e o plasminogênio – precursor de uma *protease* sanguínea cujo substrato é a fibrina, a principal proteína componente dos coágulos sanguíneos. Hipotetiza-se que a concentração elevada de Lp(a) torna mais lenta a degradação dos coágulos sanguíneos que desencadeiam os ataques cardíacos, uma vez que a Lp(a) parece competir com o plasminogênio pela ligação na fibrina. A niacina reduz a Lp(a) e aumenta a HDL.)

VII. HORMÔNIOS ESTEROIDES

O colesterol é o precursor de todas as classes de hormônios esteroides: glicocorticoides (p. ex., o cortisol), mineralocorticoides (p. ex., a aldosterona) e hormônios sexuais – andrógenos, estrógenos e progestágenos (Figura 18.24). (Nota: glicocorticoides e mineralocorticoides são coletivamente chamados de corticosteroides.) A síntese e a secreção do cortisol, da aldosterona e dos andrógenos ocorre no córtex adrenal; dos estrógenos e progestágenos, nos ovários e na placenta; e da testosterona, nos testículos. Os hormônios esteroides são transportados no sangue de seus sítios de síntese até o local de ação. Devido a sua hidrofobicidade, eles devem ser complexados com uma proteína plasmática. A albumina plasmática pode atuar como transportador inespecífico, e transporta, de fato, a aldosterona. Existem, no entanto, proteínas plasmáticas específicas para transportar esteroides, as quais ligam os esteroides mais fortemente que a albumina, como, por exemplo, a transcortina (globulina ligadora de corticosteroides), responsável pelo transporte do cortisol. Várias doenças genéticas são causadas por deficiências em etapas específicas da biossíntese de hormônios esteroides. Algumas doenças representativas estão descritas na Figura 18.25.

A. Síntese de hormônios esteroides

A síntese desses hormônios envolve o encurtamento da cadeia hidrocarbonada do colesterol e a hidroxilação do núcleo esteroide. A etapa inicial e reação limitante da velocidade converte colesterol em pregnenolona, que tem 21 carbonos. A reação é catalisada pelo *complexo enzimático de clivagem da cadeia lateral do colesterol* (*desmolase*, *P450_{scc}*) – uma *oxidase* de função mista contendo citocromo P450 (CYP), localizada na membrana interna da mitocôndria (veja a p. 149). NADPH e oxigênio molecular são necessários para essa reação. O colesterol usado nessa rea-

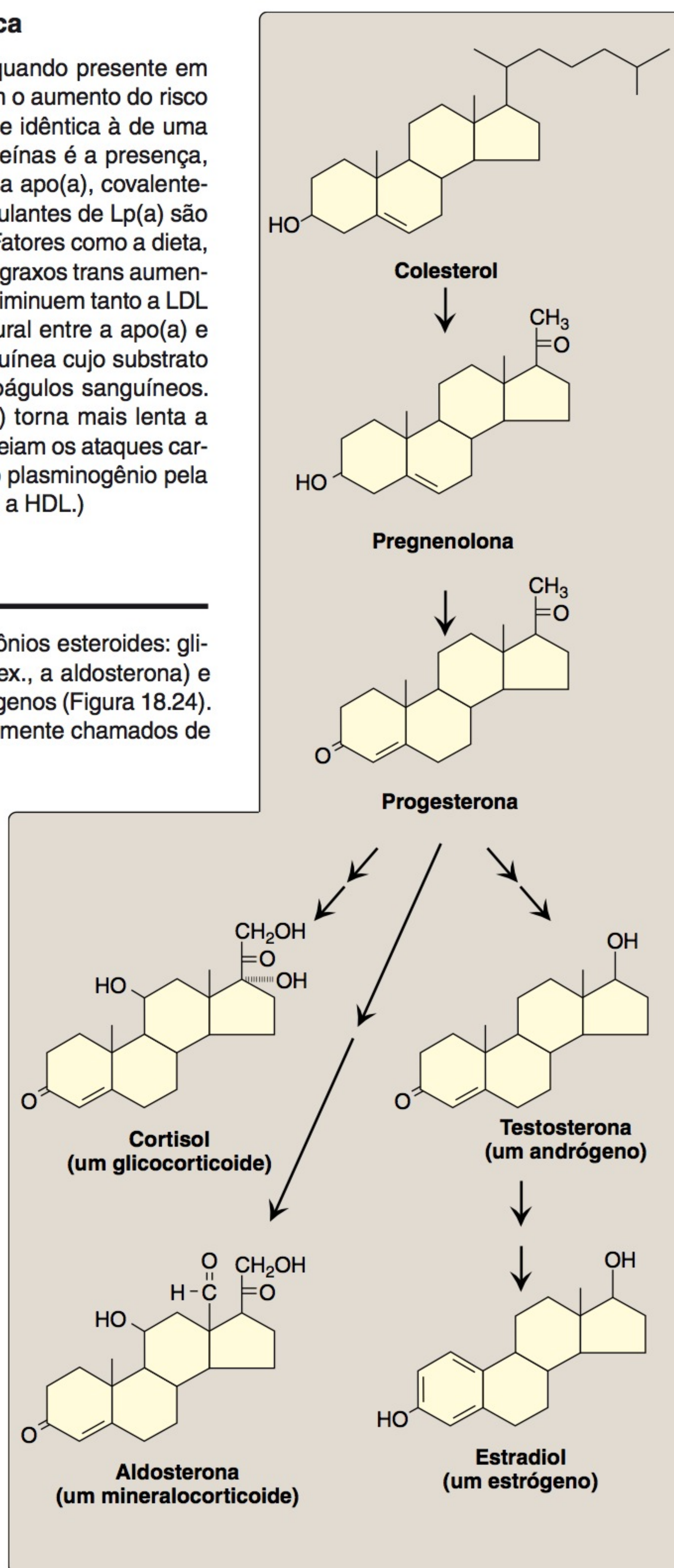


Figura 18.24

Relações entre os principais esteroides.

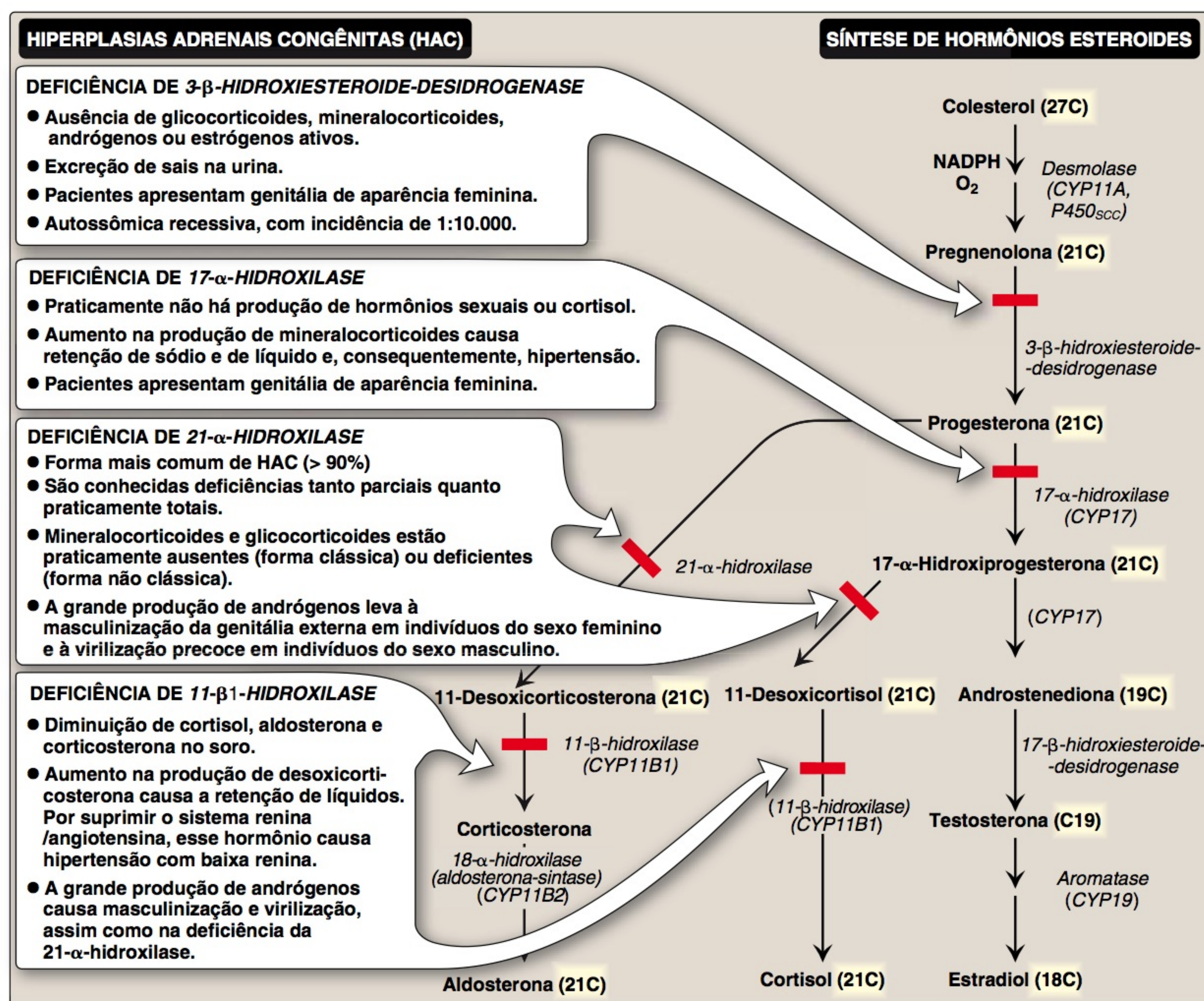


Figura 18.25

Síntese de hormônios esteroides e doenças associadas. (Nota: 3-β-Hidroxiesteroide-desidrogenase, CYP17 e CYP11B2 são enzimas bifuncionais. A síntese de testosterona e de estrógenos a partir do colesterol ocorre principalmente em outros tecidos, fora da glândula adrenal.)

ção pode ter sido originado na síntese endógena, nas lipoproteínas ou ter sido liberado dos ésteres de colesterol armazenados no citosol das células dos tecidos esteroidogênicos. Um importante ponto de controle é o movimento do colesterol para dentro da mitocôndria. Esse processo é mediado pela proteína esteroidogênica aguda reguladora (StAR). A pregnenolona é o precursor de todos os hormônios esteroides (Figura 18.25). Ela é oxidada e então isomerizada, formando progesterona, a qual é posteriormente modificada por meio de reações de hidroxilação que ocorrem no RE e na mitocôndria, dando origem a outros hormônios esteroides. Como a *desmolase*, essas enzimas são em sua maioria CYP proteínas. Defeitos na atividade ou na quantidade de enzimas dessa rota podem resultar em deficiência na síntese de hormônios formados após a etapa afetada e excesso dos hormônios ou metabólitos formados anteriormente na rota. Uma vez que todos os intermediários têm potente atividade biológica, deficiências em enzimas da rota produzem sérios desequilíbrios metabólicos (Figura 18.25). Coletivamente, essas doenças são conhecidas como hiperplasias adrenais congênitas. (Nota: a doença de Addison, decorrente da destruição autoimune do córtex adrenal, é caracterizada pela insuficiência adrenocortical.)

B. Secreção de hormônios esteroides pelo córtex da adrenal

Os hormônios esteroides são secretados pelos seus tecidos de origem em resposta a sinais hormonais. Os corticosteroides e andrógenos são sintetizados em diferentes regiões do córtex da adrenal e são secretados no sangue em resposta a diferentes sinais.

- 1. Cortisol.** Sua produção na camada média (zona fasciculada) do córtex da adrenal é controlada pelo hipotálamo, junto ao qual está localizada a hipófise (Figura 18.26). Em situações de estresse grave (p. ex., uma infecção), o hormônio liberador da corticotropina (CRH), produzido pelo hipotálamo, viaja através da rede de capilares até o lobo anterior da hipófise, onde induz a produção e secreção do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH, ou corticotropina). O ACTH, frequentemente chamado de “hormônio do estresse”, estimula o córtex adrenal a sintetizar e secretar o glicocorticoide cortisol. O cortisol induz o organismo a responder ao estresse via efeitos sobre o metabolismo intermediário (como, p. ex., pelo aumento da gliconeogênese) e sobre a resposta inflamatória e imunitária. Níveis elevados de cortisol inibem a liberação de CRH e ACTH. (Nota: o ACTH atua em um receptor acoplado à proteína G na membrana plasmática, resultando em produção de AMPc e ativação da *proteína-quinase A* [veja a p. 94]. A PKA fosforila a *esterase* que converte os ésteres de colesterol em colesterol e estimula a síntese da proteína esteroidogênica aguda reguladora [StAR].)
- 2. Aldosterona.** Sua produção na camada externa (zona glomerulosa) do córtex da adrenal é induzida pela diminuição da razão Na^+/K^+ no plasma e pelo hormônio angiotensina II. A angiotensina II (um octapeptídeo) é produzida a partir da angiotensina I (um decapeptídeo) pela *enzima conversora de angiotensina (ECA)*, uma enzima encontrada predominantemente nos pulmões, mas também distribuída de modo amplo pelo organismo. (Nota: a angiotensina I é produzida no sangue pela clivagem de um precursor inativo, angiotensinogênio, secretado pelo fígado. A clivagem é realizada pela enzima *renina*, sintetizada e secretada pelos rins.) A angiotensina II atua via receptores na superfície celular. Em contraste com o ACTH, seus efeitos são mediados pela rota do fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2) (veja a p. 205) e não pela via do AMPc. A aldosterona atua principalmente nos túbulos renais, onde estimula a captação de sódio e a excreção de potássio (Figura 18.27). (Nota: um efeito da aldosterona é o aumento da pressão sanguínea. Inibidores competitivos da *ECA* são usados no tratamento da hipertensão dependente de *renina*.)
- 3. Andrógenos.** A produção dos andrógenos, principalmente desidroepiandrosterona e androstenediona, é feita tanto pela camada interna (zona reticular), quanto pela camada média do córtex da adrenal. Os andrógenos produzidos pela adrenal são pouco ativos, mas são convertidos em testosterona (um andrógeno muito potente) e em estrógenos nos tecidos periféricos.

Os estrógenos são derivados da androstenediona e da testosterona pela ação da *aromatase (CYP19)*. Inibidores da *aromatase* são usados no tratamento do câncer de mama responsivo a estrógeno, em mulheres na pós-menopausa.

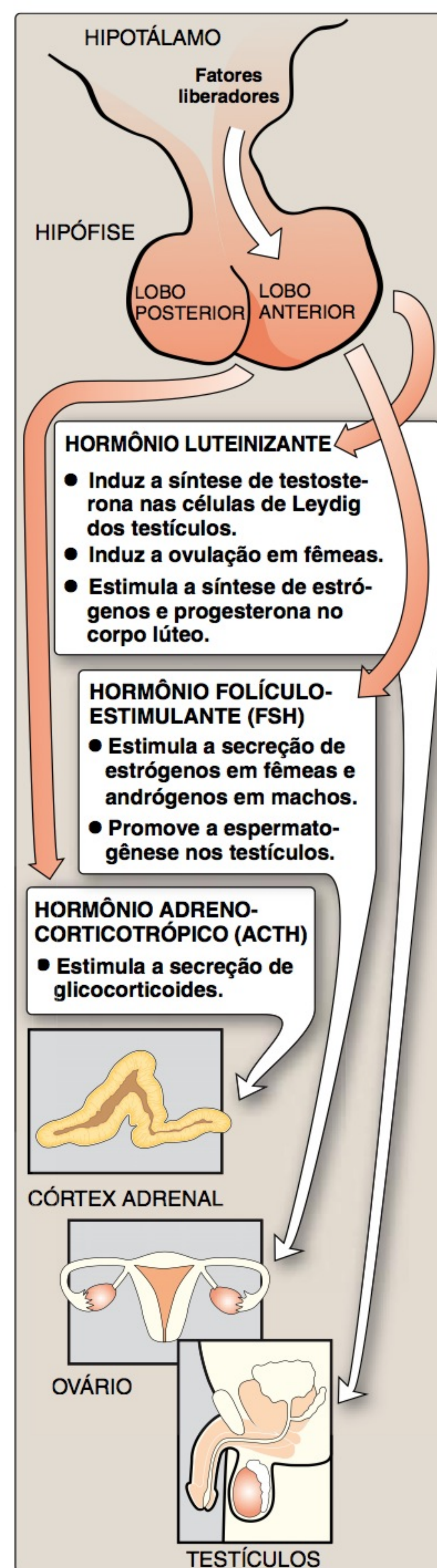


Figura 18.26

Regulação da *HMG-CoA redutase*. ERE = elemento de resposta a esteróis; PLE-RE = proteína ligadora ao elemento de resposta a esteróis; PAC-PLERE = proteína ativadora da clivagem da PLE-RE.

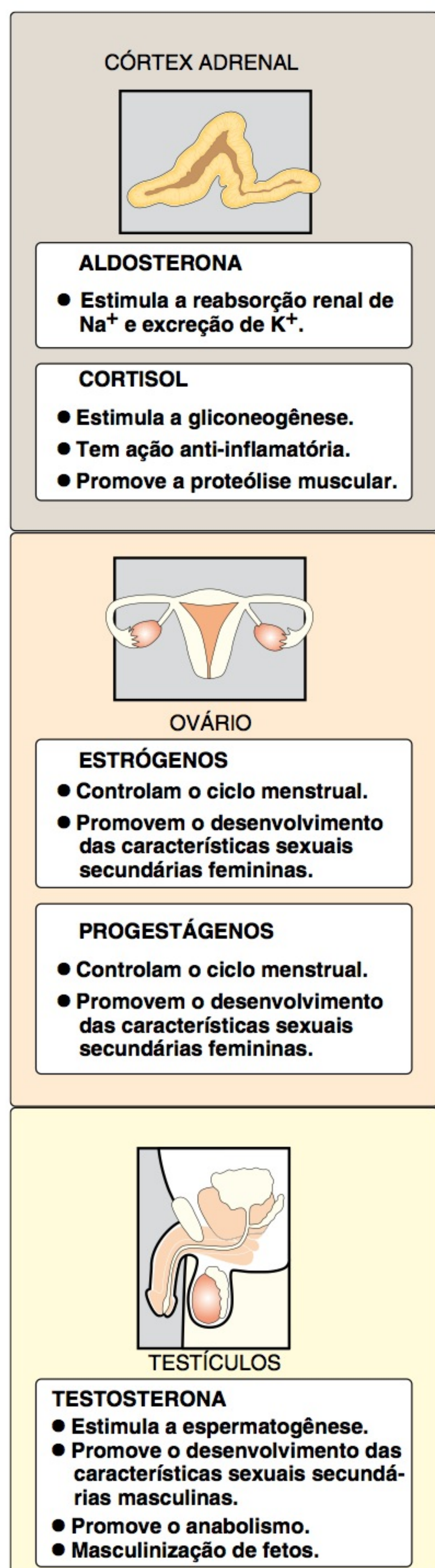


Figura 18.27

Ações dos hormônios esteroides.

C. Secreção de hormônios esteroides pelas gônadas

Os testículos e os ovários sintetizam os hormônios necessários para a diferenciação sexual e a reprodução. Um único fator liberador hipotalâmico, o hormônio liberador de gonadotropinas, estimula a hipófise anterior a liberar as glicoproteínas hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH). Da mesma forma que o ACTH, o LH e o FSH atuam via receptores específicos na superfície celular, causando aumento de AMPc. O LH estimula os testículos a produzirem testosterona e os ovários a produzirem estrógenos e progesterona (Figura 18.27). O FSH regula o crescimento dos folículos ovarianos e estimula a espermatogênese nos testículos.

D. Mecanismo de ação dos hormônios esteroides

Os esteroides difundem através da membrana plasmática de suas células-alvo e ligam-se a um receptor específico citosólico ou nuclear. O complexo receptor-ligante se acumula no núcleo, sofre dimerização e se liga a sequências reguladoras no DNA (elementos de resposta a hormônios, ERH), em associação com proteínas coativadoras. Assim, ocorre a ativação do promotor, aumentando a transcrição dos genes-alvo (Figura 18.28). Um ERH é encontrado no promotor (ou um elemento estimulador, veja a p. 424) para genes que respondem a um determinado hormônio esteroide, assegurando a regulação coordenada desses genes. O complexo hormônio-receptor pode também inibir a transcrição, associando-se a correpresores. (Nota: a ligação dos hormônios a seus receptores causa uma mudança conformacional no receptor, que expõe seu domínio de ligação ao DNA, permitindo que o complexo interaja, por meio de um motivo “dedo de zinco”, com a sequência apropriada no DNA. Os receptores de hormônios esteroides, de hormônios da tireoide, do ácido retinoico [veja a p. 382] e do 1,25-di-hidroxicolecalciferol [vitamina D, veja a p. 386] são membros de uma “superfamília” de reguladores gênicos estruturalmente relacionados que atuam de maneira similar.)

E. Inativação dos hormônios esteroides

No fígado, os hormônios esteroides são geralmente convertidos em metabólitos inativos, destinados à excreção. As reações incluem a redução de ligações insaturadas e a introdução de grupos hidroxila adicionais. As estruturas resultantes são transformadas em produtos mais solúveis pela conjugação com ácido glicurônico ou sulfato (a partir do 3'fosfoadenosil-5'fosfossulfato, veja p. 162). Aproximadamente 20 a 30% desses metabólitos são secretados na bile e então excretados nas fezes, e o restante é liberado no sangue e filtrado nos rins, passando para a urina. Esses metabólitos conjugados são relativamente solúveis em água e não necessitam de proteínas transportadoras.

VIII. RESUMO DO CAPÍTULO

O colesterol é um composto **hidrofóbico**, com um único grupo hidroxila – localizado no carbono 3 do anel A – ao qual um ácido graxo pode ser ligado, produzindo um **éster de colesterol**, ainda mais hidrofóbico. O colesterol é sintetizado por praticamente todos os tecidos humanos, mas principalmente pelo **fígado**, pelo **intestino**, pelo **córtex da adrenal** e pelos **tecidos reprodutivos** (Figura 18.29). O **acetato** é o doador de todos os carbonos para a síntese do colesterol, e o **NADPH** fornece os equivalentes de redução. A energia para a rota de síntese provém da hidrólise das ligações tioéster de alta energia da acetil-CoA e do fosfato terminal do ATP. O colesterol é sintetizado no **citoplasma**. A **etapa regulatória** e

limitante da velocidade da síntese do colesterol é catalisada por uma proteína associada à membrana do RE liso, a **hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA)-redutase**, que produz **mevalonato** a partir de HMG-CoA. A enzima é regulada por vários mecanismos: 1) a **expressão do gene da (HMG-CoA)-redutase** é ativada quando os níveis de colesterol estão baixos, por meio do fator de transcrição PLER-2, que se liga a um elemento de resposta a esteróis (ERE), resultando em aumento da enzima e, por consequência, em maior síntese de colesterol; 2) a atividade da HMG-CoA-redutase é controlada pela ação da **proteína-cinase ativada por monofosfato de adenosina (AMP) (AMPK)**, que fosforila e **inativa** a (HMG-CoA)-redutase e da **proteína-fosfatase ativada por insulina** (que **ativa** a (HMG-CoA)-redutase); 3) a expressão do gene da (HMG-CoA)-redutase é aumentada pela insulina e diminuída pelo glucagon. As estatinas são **inibidores competitivos** da (HMG-CoA)-redutase. Esses fármacos são usados para diminuir o colesterol plasmático em pacientes com **hipercolesterolemia**. A estrutura em anéis do colesterol não pode ser degradada em humanos.

O colesterol pode ser eliminado do organismo pela **conversão em sais biliares** ou por sua **secreção na bile**. Os **sais biliares** e a **fosfatidilcolina** são quantitativamente os principais compostos orgânicos da bile. Os sais biliares são **ácidos biliares conjugados**, produzidos pelo **fígado** e **armazenados na vesícula biliar**. Os **ácidos biliares primários**, o **ácido cólico** e o **quenodesoxicólico** são **anfipáticos** e servem como **agentes emulsificadores**. A etapa limitante da síntese dos ácidos biliares é catalisada pela **colesterol-7- α -hidroxilase**, que é **inibida** por **ácidos biliares**. Antes dos ácidos biliares deixarem o fígado, eles são conjugados a uma molécula de **glicina** ou de **taurina**, produzindo os **sais biliares primários**: os **ácidos glicocólico** ou **taurocólico** e os **ácidos glicoquenodesoxicólico** ou **tauroquenodesoxicólico**. Os sais biliares são mais anfipáticos que os ácidos biliares e, portanto, são agentes emulsificadores mais eficientes. No intestino, bactérias podem remover a glicina e a taurina, como também o grupo hidroxila do núcleo esteroide, produzindo **ácidos biliares secundários** – os **ácidos desoxicólico** e **litocólico**. Mais de 95% dos ácidos e sais biliares são eficientemente reabsorvidos do intestino por um cotransportador sódio-sal biliar. Eles são então ativamente transportados das células da mucosa do íleo para o sangue-porta, onde são carregados pela albumina de volta ao fígado (**circulação entero-hepática**, que pode ser **reduzida** por **sequestradores de sais biliares**), onde são captados pela forma hepática do cotransportador. No fígado, os ácidos biliares primários e secundários são novamente convertidos em sais biliares e secretados na bile. Se mais colesterol entra na bile do que pode ser solubilizado pelos sais biliares e pela fosfatidilcolina disponíveis, pode ocorrer a formação de **cálculos biliares** de colesterol (**colelitíase**).

As lipoproteínas plasmáticas incluem os **quilomicra**, as **lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL)**, as **lipoproteínas de baixa densidade (LDL)** e as **lipoproteínas de alta densidade (HDL)**. Elas têm como função manter os lipídeos em solução (principalmente os **triacilgliceróis [TAG]** e os **ésteres de colesterol**) durante o seu transporte entre os tecidos. As lipoproteínas são compostas de um núcleo de **lipídeos neutros** (contendo **TAG**, **ésteres de colesterol** ou ambos) envolto por uma cápsula anfipática de **apolipoproteínas**, **fosfolipídeos** e **colesterol livre** (não esterificado). Os **quilomicra** são produzidos nas **células da mucosa intestinal** a partir de **lipídeos da dieta** (principalmente **triacilgliceróis**). Cada partícula nascente de quilomicra contém uma molécula de **apolipoproteína (apo) B-48**. Essas partículas são liberadas no sistema linfático

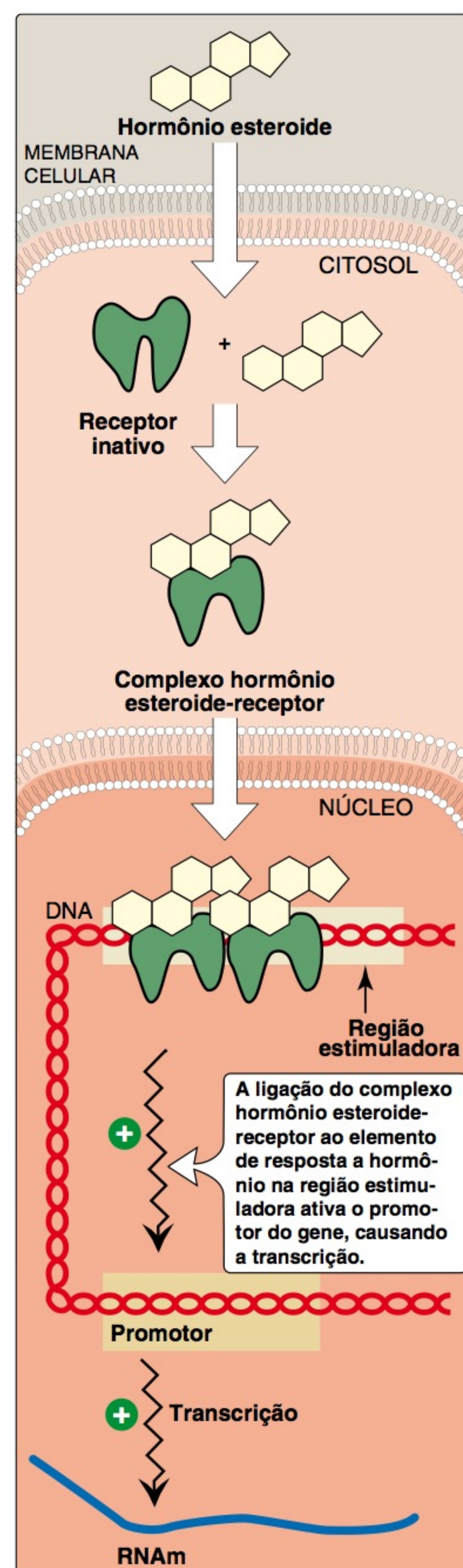


Figura 18.28

Ativação da transcrição pela interação do complexo hormônio esteroide-receptor com o elemento de resposta a hormônio (ERE).

e viajam até o sangue, onde recebem a **apo C-II** e a **apo E** doadas pelas **HDL**. A apo C-II ativa a **lipase lipoproteica** endotelial, que degrada os **TAG** dos quilomicra em ácidos graxos e glicerol. Os **ácidos graxos** liberados são **armazenados** (no **tecido adiposo**) ou usados para produzir **energia** (pelo **músculo**). O **glicerol** é metabolizado no **fígado**. Pacientes com **deficiência** na **lipase lipoproteica** ou na **apo C-II** apresentam acúmulo significativo de quilomicra no plasma (**hiperlipoproteinemia tipo I** ou **deficiência familiar de lipase lipoproteica**). Depois da hidrólise da maioria dos TAG, a apo C-II retorna para a HDL, e o **quilomícron remanescente** – transportando a maioria do **colesterol da dieta** – liga-se a seu **receptor** no **fígado**, que reconhece a **apo E**. A partícula é **endocitada** e seus componentes são degradados pelas **enzimas lisossomais**. Defeitos na captação de quilomicra remanescentes causam hiperlipoproteinemia tipo III. As **VLDL nascentes** são produzidas no **fígado** e são compostas principalmente por **TAG**. Cada partícula contém uma molécula de **apo B-100**. Da mesma forma que os quilomicra nascentes, as VLDL recebem a **apo C-II** e a **apo E** das **HDL** no plasma. A **função** das VLDL é **carregar TAG hepáticos** para os **tecidos periféricos**, onde a **lipase lipoproteica** degrada os lipídeos. À medida que os TAG são removidos das VLDL, estas recebem **ésteres de colesterol** das **HDL**. Esse processo é executado pela **proteína transferidora de ésteres de colesterol**. As VLDLs no plasma são, por fim, **convertidas em LDL** – partículas muito menores e mais densas. A apo C-II e a apo E retornam para a HDL, mas a LDL retém a **apo B-100**, que é reconhecida por **receptores** nos **tecidos periféricos** e no **fígado**. A LDL sofre, então, **endocitose mediada por receptor**, e seus componentes são degradados nos **lisossomos**. A **deficiência de receptores funcionais para LDL** causa **hiperlipoproteinemia tipo II** (**hipercolesterolemia familiar**). O colesterol endocitado **inibe a HMG-CoA-redutase** e **diminui a síntese de receptores para LDL**. Parte do colesterol pode também ser esterificado pela **acil-CoA:colesterol-aciltransferase (ACAT)** e armazenado. As **HDL** são formadas por **adição de lipídeos à apo A-1** sintetizada no **fígado** e no **intestino**. Elas têm uma série de funções, incluindo: 1) servem de **reservatório circulante de apo C-II e apo E** para quilomicra e VLDL; 2) removem **colesterol não esterificado** dos tecidos periféricos via ABCA1 e o esterificam, usando a **lecitina:colesterol-aciltransferase (LCAT)**, enzima plasmática sintetizada pelo fígado e ativada pela **apo A-1**; por fim, 3) levam esses ésteres de colesterol até o fígado (**transporte reverso de colesterol**), onde é captado via RR-B1 (receptor “removedor” classe B tipo 1).

O **colesterol** é precursor de todos os hormônios esteroides (**glicocorticoides**, **mineralocorticoides** e **hormônios sexuais** – **andrógenos**, **estrógenos** e **progestágenos**). A **síntese**, usando principalmente **oxidases de função mista** – **citocromo P-450 (CYP)**, ocorre no **córtex da adrenal** (**cortisol**, **aldosterona** e **andrógenos**), nos **ovários** e na **placenta** (**estrógenos** e **progestágenos**) e nos **testículos** (**testosterona**). Os hormônios esteroides difundem através da membrana plasmática de suas células-alvo e ligam-se a um **receptor** específico **citossólico** ou **nuclear**. O **complexo receptor-ligante** se acumula no núcleo, dimeriza e **liga-se** a sequências regulatórias específicas do DNA (**elementos de resposta a hormônios**) em associação com proteínas coativadoras, causando a **ativação do promotor** e o **aumento da transcrição** de genes-alvo. Em associação com correpressores, a **transcrição é diminuída**.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 18.1 Uma mulher de 35 anos procurou o serviço de emergência devido a uma dor abdominal recorrente. O histórico da paciente revelou que ela vem sentindo dor no quadrante superior direito há cerca de 2 anos, com início da dor várias horas após a ingestão de refeições ricas em frituras/gorduras. A ultrassonografia mostrou a presença de numerosas pedras na vesícula biliar. A paciente inicialmente escolheu um tratamento que consistia na administração de ácido quenodesoxicólico, mas a recuperação completa aconteceu somente após a remoção cirúrgica da vesícula biliar. A razão para o tratamento inicial da paciente com o ácido quenodesoxicólico é que esse composto:

- A. Interfere com a circulação entero-hepática.
- B. Inibe a síntese de colesterol.
- C. Aumenta a síntese *de novo* de ácidos biliares.
- D. Aumenta a solubilidade do colesterol na bile.
- E. Estimula a produção de VLDL pelo fígado.

Resposta correta = D. O ácido quenodesoxicólico é um ácido biliar usado no tratamento de cálculos biliares. Ele é uma molécula anfipática que atua como agente emulsificador e ajuda a solubilizar o colesterol. Não tem efeito sobre a circulação entero-hepática, não interfere na síntese de colesterol, não aumenta a produção de bile e não estimula a produção de VLDL.

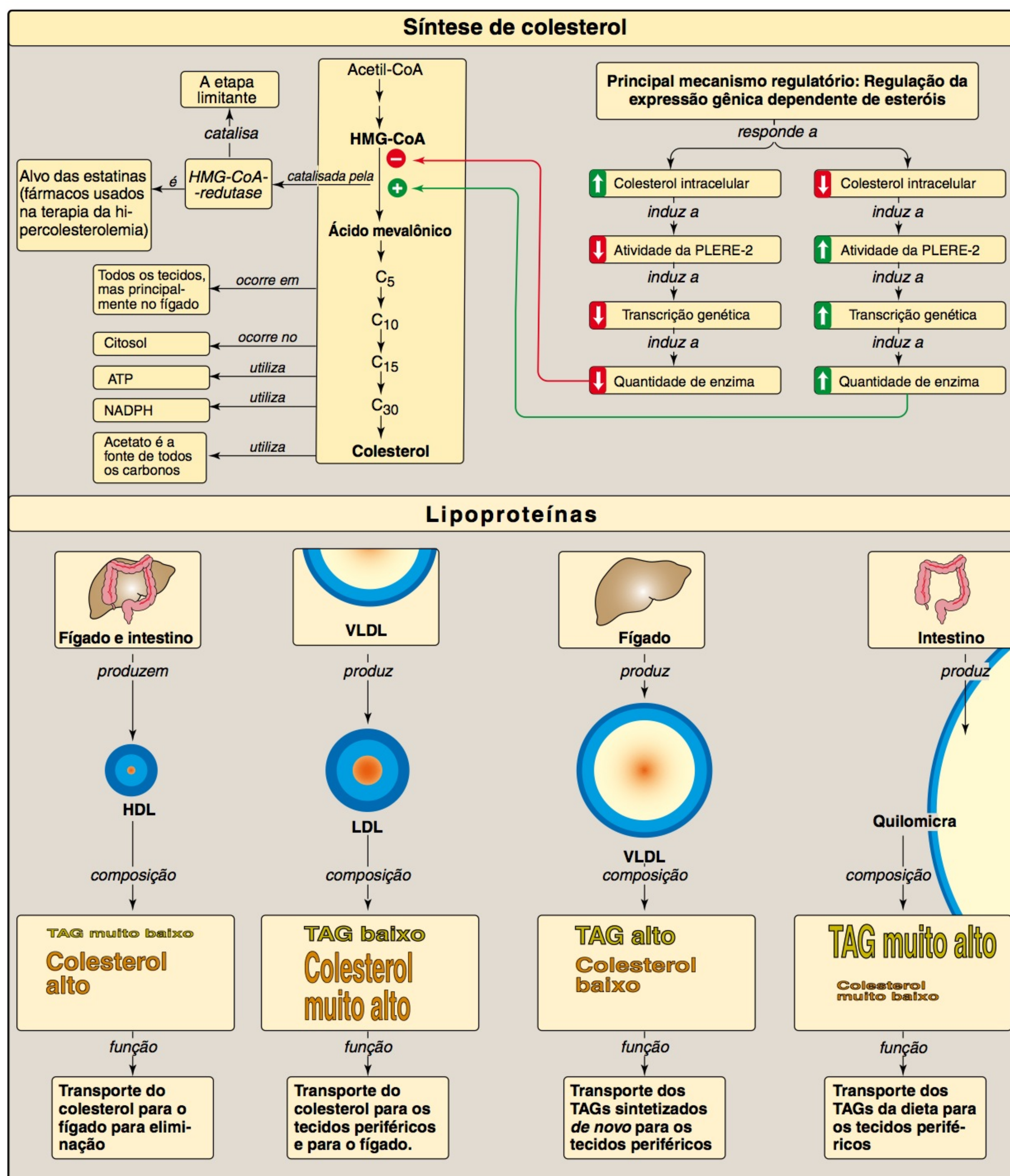


Figura 18.29

Mapa de conceitos-chave para o colesterol.

Para as Questões 18.2 e 18.3:

Uma menina com história de forte dor abdominal foi levada às 5 horas da manhã para o hospital local. O sangue foi coletado e observou-se que o plasma tinha aparência opalescente, com o nível de triacilgliceróis acima de 2.000 mg/dL (normal = 4 – 150 mg/dL). A paciente foi colocada em dieta com restrição lipídica rigorosa, mas suplementada com ácidos graxos de cadeia média.

18.2 Qual das seguintes lipoproteínas é provavelmente a responsável pela aparência do plasma da paciente?

- A. Quilomicra.
- B. Lipoproteínas de densidade muito baixa.
- C. Lipoproteínas de densidade intermediária.
- D. Lipoproteínas de densidade baixa.
- E. Lipoproteínas de densidade alta.

18.3 A dieta é suplementada com ácidos graxos de cadeia média, pois:

- A. São mais calóricos que os de cadeia longa.
- B. Entram diretamente na circulação-porta e podem ser metabolizados pelo fígado.
- C. São ativadores da lipase lipoproteica.
- D. São empacotados mais eficientemente nas lipoproteínas plasmáticas.
- E. Podem ser convertidos em uma variedade de precursores gliconeogênicos

18.4 Complete a tabela, comparando um indivíduo com deficiência clássica de 21- α -hidroxilase com um indivíduo normal.

Parâmetro Avaliado	Aumentado	Diminuído
Aldosterona		
Cortisol		
Androstenediona		
ACTH		
Glicemia		
Pressão sanguínea		

Quais seriam os resultados se a enzima deficiente fosse a 17- α -hidroxilase em vez da 21- α -hidroxilase?

Resposta correta = A. A aparência opalescente do sangue resulta da presença de quilomicra ricos em triacilgliceróis. Como são 5 horas da manhã, presumivelmente se passaram várias horas depois do jantar, de modo que a paciente deve ter dificuldades na depuração dessa lipoproteína. IDL, LDL e HDL contêm principalmente ésteres de colesterol e, se uma ou mais dessas partículas estivesse aumentada, causaria hipercolesterolemia. As VLDL não causam a aparência opalescente no plasma.

Resposta correta = B. Ácidos graxos de cadeia média não são empacotados nos quilomicra, sendo transportados pela albumina para o fígado, onde podem ser metabolizados. Eles têm a mesma densidade calórica dos ácidos graxos de cadeia longa, e são geralmente mais cetogênicos que glicogênicos. A lipase lipoproteica não participa do seu metabolismo

Parâmetro Avaliado	Aumentado	Diminuído
Aldosterona		X
Cortisol		X
Androstenediona	X	
ACTH	X	
Glicemia		X
Pressão sanguínea		X

Na deficiência de 21- α -hidroxilase praticamente não ocorre a síntese de mineralocorticoides (aldosterona) e de glicocorticoides (cortisol). Como a aldosterona causa o aumento da pressão sanguínea e o cortisol o aumento da glicemia, a deficiência nesses hormônios resulta na diminuição da pressão sanguínea e da glicemia, respectivamente. O cortisol reduz (via retroalimentação negativa) a liberação de ACTH pela hipófise, de modo que sua ausência resulta na elevação dos níveis de ACTH. A falta de 21- α -hidroxilase desvia a progesterona e a pregnenolona para síntese de andrógenos, causando aumento de androstenediona. Na deficiência de 17- α -hidroxilase, a síntese de hormônios sexuais estará diminuída. A produção de mineralocorticoides estará aumentada, causando hipertensão.

Aminoácidos: Destino do Nitrogênio

I. VISÃO GERAL

Ao contrário do que ocorre com as gorduras e os carboidratos, os aminoácidos não são armazenados pelo organismo, isto é, não há proteínas cuja única função seja manter um suprimento de aminoácidos para utilização posterior. Assim, os aminoácidos devem ser obtidos da dieta, sintetizados *de novo* ou produzidos pela degradação proteica normal. Quaisquer aminoácidos em excesso em relação às necessidades biossintéticas da célula são rapidamente degradados. A primeira fase do catabolismo envolve a remoção dos grupos α -amino (em geral por transaminação e subsequente desaminação oxidativa), formando amônia e o α -cetoácido correspondente – os “esqueletos carbonados” dos aminoácidos. Parte da amônia livre é excretada na urina, mas a maior parte é utilizada na síntese de ureia (Figura 19.1) – quantitativamente a via mais importante para o descarte do nitrogênio do organismo. Na segunda fase do catabolismo dos aminoácidos, descrita no Capítulo 20, os esqueletos carbonados dos α -cetoácidos são convertidos em intermediários comuns das vias metabólicas produtoras de energia. Esses compostos podem ser metabolizados a CO_2 e H_2O , glicose, ácidos graxos ou corpos cetônicos pelas vias centrais do metabolismo, descritas nos Capítulos 8 a 13 e 16.

II. METABOLISMO GERAL DO NITROGÊNIO

O catabolismo dos aminoácidos é parte do processo maior do metabolismo dos compostos nitrogenados. O nitrogênio entra no organismo em uma variedade de compostos presentes nos alimentos, os mais importantes sendo os aminoácidos contidos nas proteínas da dieta. O nitrogênio deixa o organismo na forma de ureia, amônia e outros produtos derivados do metabolismo dos aminoácidos. O papel das proteínas corporais nessas transformações envolve dois conceitos importantes: o conjunto (*pool*) dos aminoácidos e a renovação das proteínas.

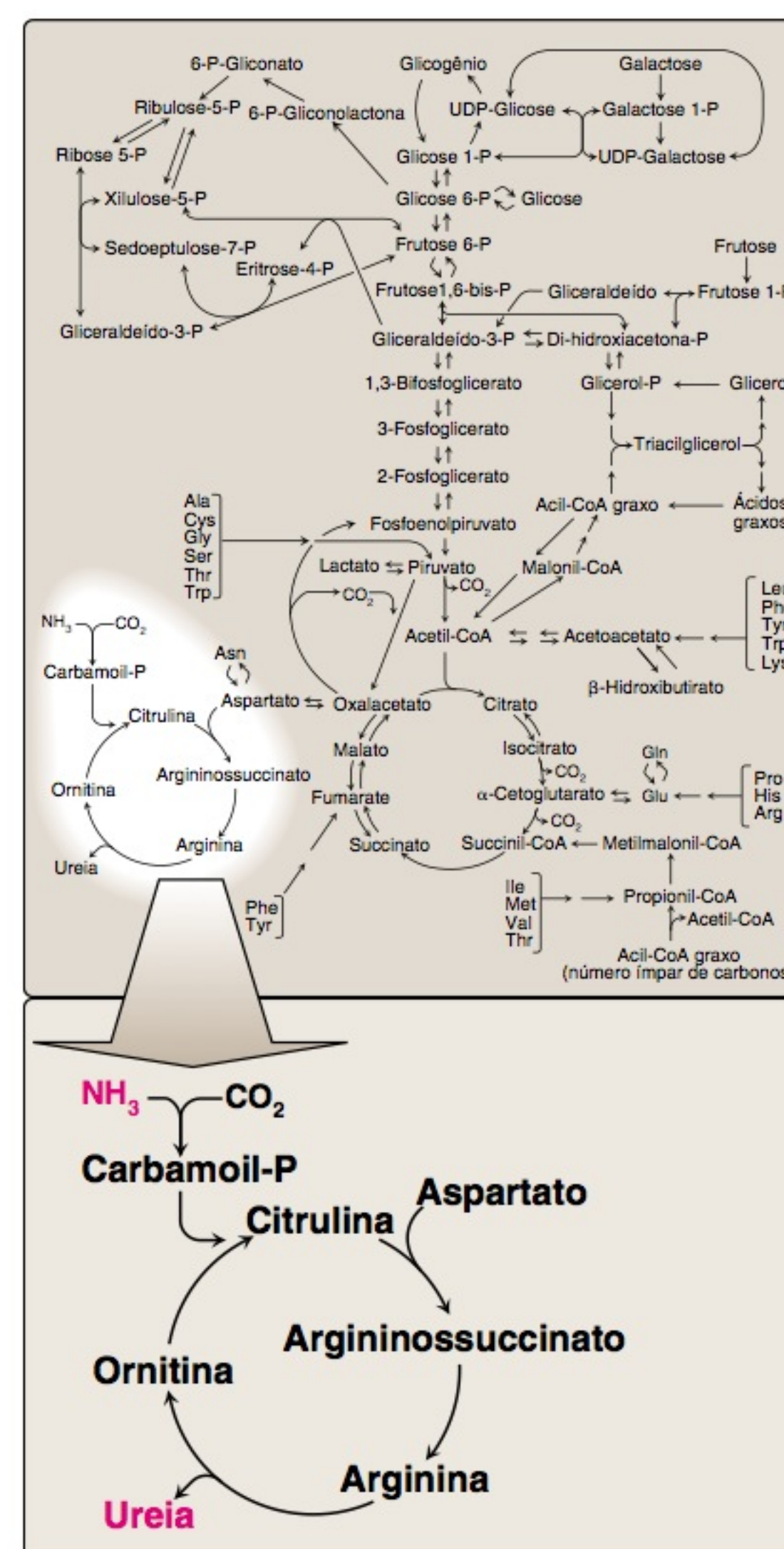


Figura 19.1

O ciclo da ureia, mostrado como parte das reações essenciais do metabolismo energético. (Veja a Figura 8.2, p. 92, para uma visão mais detalhada do mapa metabólico.)

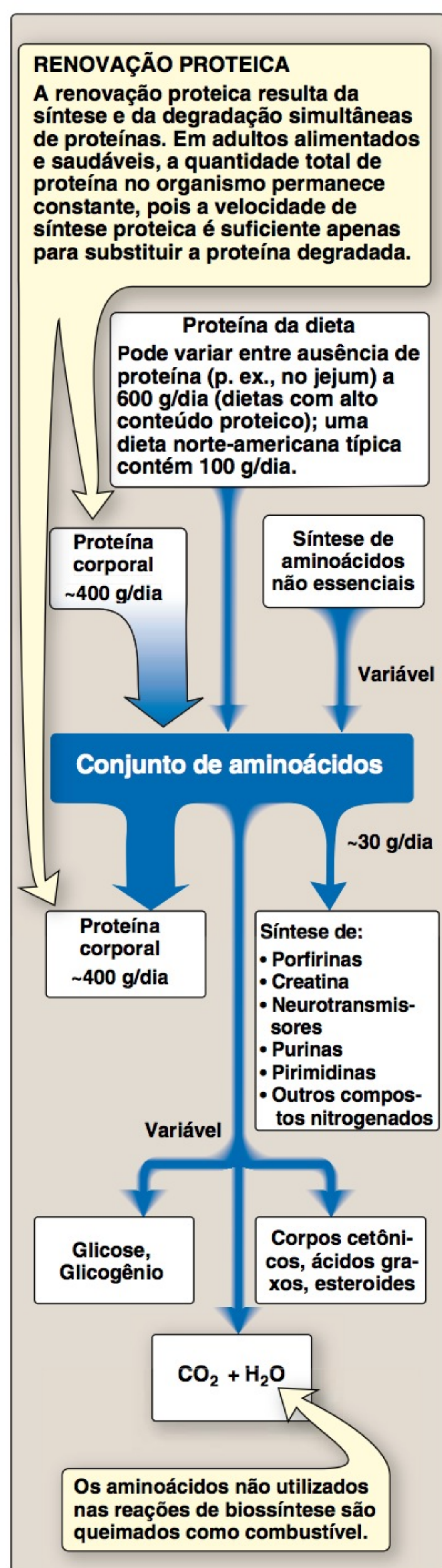


Figura 19.2

Fontes e destinos dos aminoácidos.

A. Conjunto de aminoácidos

Os aminoácidos livres estão presentes em todo o organismo, como por exemplo, nas células, no sangue e nos fluidos extracelulares. Para a presente discussão, consideraremos todos esses aminoácidos como pertencendo a uma única entidade, o chamado conjunto dos aminoácidos. Esse conjunto provém de três fontes: 1) aminoácidos liberados pela hidrólise das proteínas teciduais; 2) aminoácidos derivados de proteínas da dieta; e 3) aminoácidos não essenciais sintetizados a partir de intermediários simples do metabolismo (Figura 19.2). Por sua vez, esse conjunto pode ser desgastado de três formas: 1) síntese de proteínas para o organismo; 2) utilização para síntese de pequenas moléculas nitrogenadas essenciais; e 3) conversão dos aminoácidos em glicose, glicogênio, ácidos graxos, corpos cetônicos ou CO_2 (Figura 19.2). Embora o conjunto de aminoácidos seja pequeno (contém cerca de 90 a 100 g de aminoácidos) em comparação com a quantidade de proteína corporal (cerca de 12 kg em um homem de 70 kg), ele está, conceitualmente, no centro de todo o metabolismo do nitrogênio no organismo.

Em indivíduos saudáveis e bem-alimentados, a entrada de aminoácidos no conjunto está equilibrada com a saída, ou seja, a quantidade de aminoácidos do conjunto é constante. Por isso, costuma-se dizer que o conjunto de aminoácidos está em estado de equilíbrio, e diz-se que o indivíduo está com o balanço nitrogenado equilibrado.

B. Renovação das proteínas

No organismo, a maioria das proteínas é constantemente sintetizada e então degradada, permitindo a remoção de proteínas anormais ou desnecessárias. Para muitas proteínas, a regulação da síntese determina sua concentração na célula, com a degradação proteica apresentando menor importância nessa avaliação. Para outras proteínas, a velocidade de síntese é constitutiva, ou seja, relativamente constante, e os níveis celulares da proteína são controlados por degradação seletiva.

- 1. Velocidade de renovação.** Em adultos saudáveis, a quantidade total de proteína corporal permanece constante, pois a taxa de síntese proteica é suficiente apenas para substituir a proteína degradada. Esse processo, denominado renovação das proteínas, leva à hidrólise e à ressíntese de 300 a 400 g de proteína corporal por dia. A taxa de renovação das proteínas varia amplamente de acordo com o tipo de proteína. As de curta duração (p. ex., muitas proteínas reguladoras e proteínas organizadas de forma errônea) são degradadas rapidamente, apresentando meias-vidas de minutos ou horas. As de longa duração, com meias-vidas de dias a semanas, constituem a maioria das proteínas celulares. Proteínas estruturais, como o colágeno, são metabolicamente estáveis e apresentam meias-vidas de meses a anos.
- 2. Degradação proteica.** Há dois sistemas enzimáticos principais, responsáveis pela degradação de proteínas danificadas ou desnecessárias: o sistema ubiquitina-proteassomo, dependente de energia (ATP), no citosol, e as enzimas degradativas dos lisossomos, não dependentes de ATP. Os proteassomos degradam principalmente proteínas endógenas, ou seja, proteínas sintetizadas dentro da própria célula. As enzimas lisossomais (*hidrolases ácidas*, veja

a p. 162) degradam principalmente proteínas extracelulares, como proteínas plasmáticas, captadas pela célula por endocitose, e proteínas de superfície da membrana celular, utilizadas na endocitose mediada por receptor.

a. Via proteolítica ubiquitina-proteassomo. As proteínas destinadas à degradação pelo sistema ubiquitina-proteassomo são inicialmente ligadas covalentemente à ubiquitina, uma pequena proteína globular não enzimática. A ubiquitinação do substrato-alvo ocorre por meio da ligação da α -carboxila da glicina C-terminal da ubiquitina a um grupo ϵ -amino de uma lisina da proteína que serve de substrato, em um processo de três etapas catalisado enzimaticamente e dependente de ATP. A adição consecutiva de porções ubiquitina gera uma cadeia de poliubiquitina. As proteínas marcadas com ubiquitina são então reconhecidas por um grande complexo proteolítico macromolecular, com formato de barril, denominado proteassomo, que funciona como “lata de lixo” (Figura 19.3). O proteassomo desenrola, desubiquitina e corta a proteína-alvo em fragmentos, posteriormente degradados em aminoácidos, que entram no conjunto dos aminoácidos. (Nota: as ubiquitinas são recicladas.) Deve-se observar que a degradação seletiva de proteínas pelo complexo ubiquitina-proteassomo, ao contrário da simples hidrólise por enzimas proteolíticas, requer energia na forma de ATP.

b. Sinais químicos para a degradação proteica. Uma vez que as proteínas apresentam meias-vidas distintas, é evidente que a degradação proteica não pode ser aleatória, mas deve ser influenciada por algum aspecto estrutural da proteína. Por exemplo, algumas proteínas alteradas quimicamente por oxidação ou marcadas com ubiquitina são degradadas preferencialmente. A meia-vida de uma proteína é influenciada pela natureza de seu resíduo N-terminal. Por exemplo, proteínas que apresentam serina como o aminoácido N-terminal têm maior duração, com meia-vida de mais de 20 horas. Em contraste, proteínas com aspartato como o aminoácido N-terminal apresentam meia-vida de apenas três minutos. Além disso, proteínas ricas em sequências contendo prolina, glutamato, serina e treonina (denominadas sequências PEST, devido às designações de uma letra para esses aminoácidos) são degradadas rapidamente e, portanto, apresentam meias-vidas intracelulares curtas.

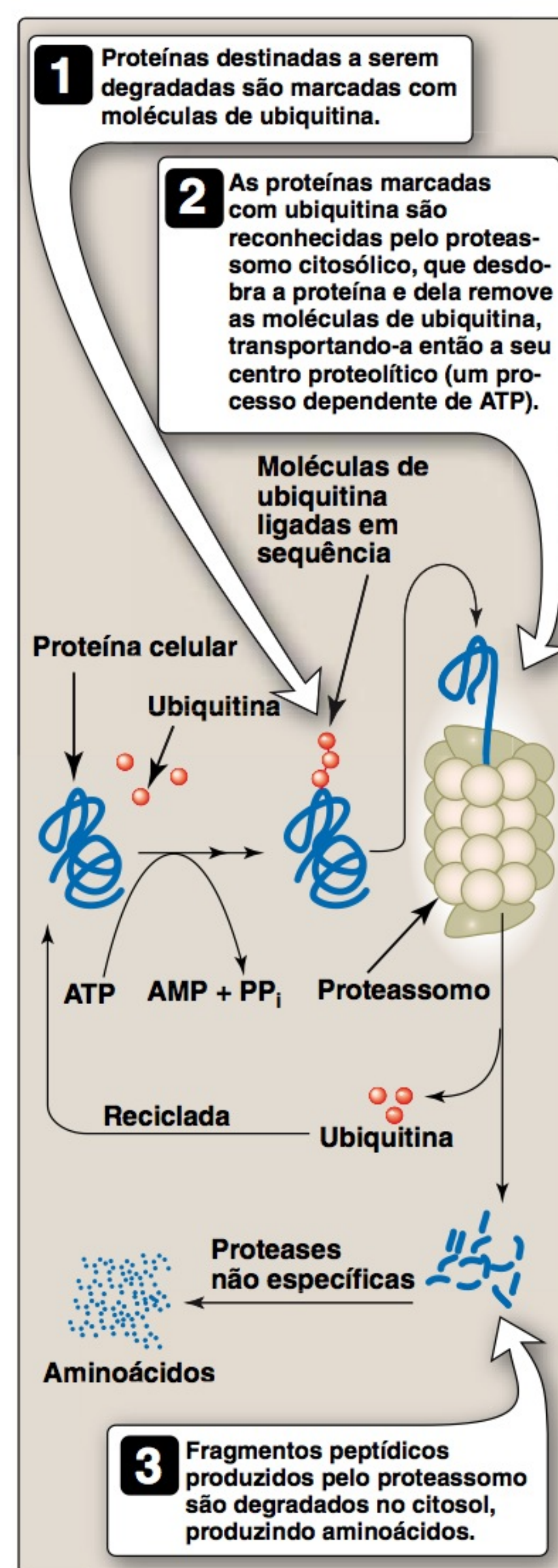
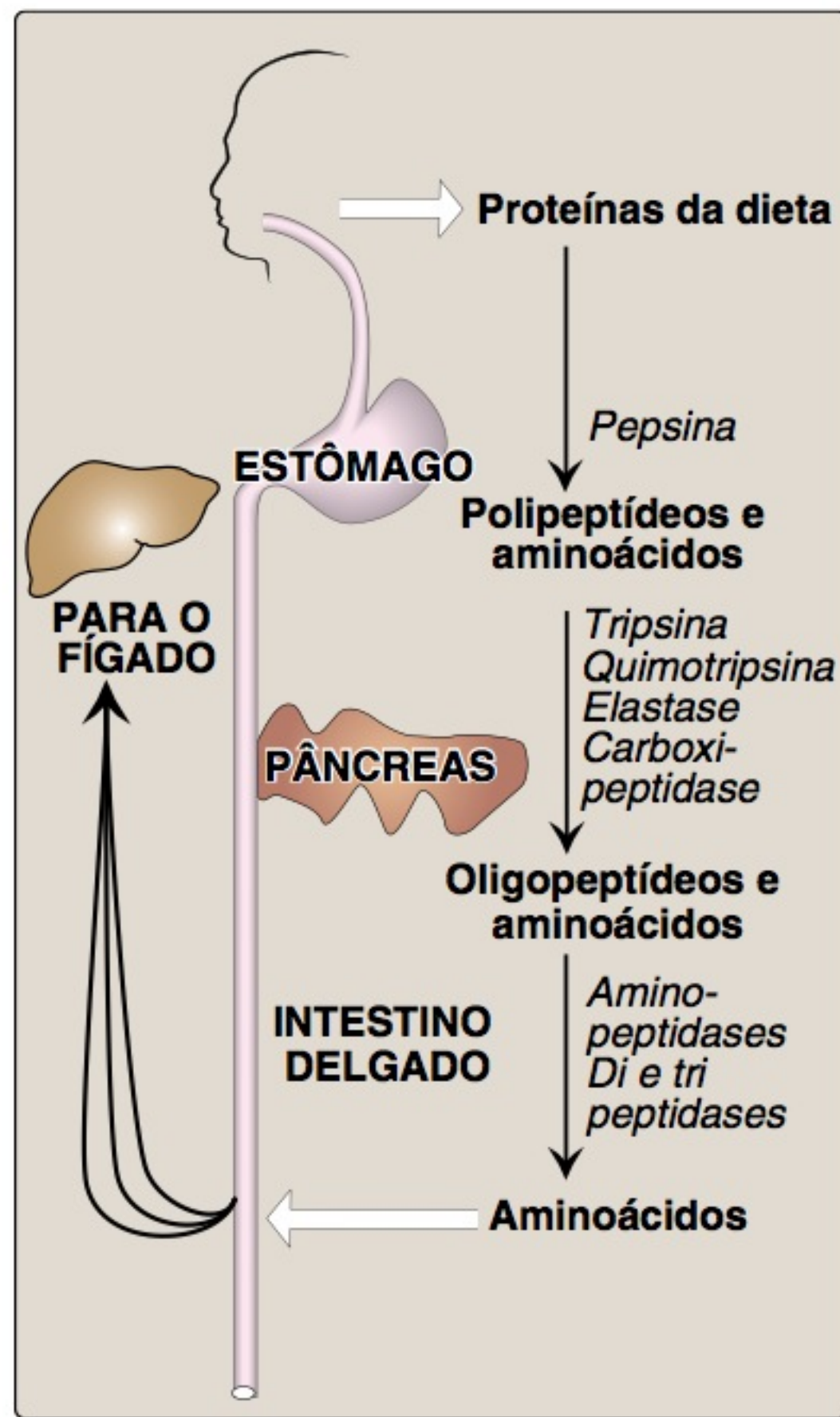


Figura 19.3

A via ubiquitina-proteassomo de degradação das proteínas.

III. DIGESTÃO DAS PROTEÍNAS DA DIETA

A maior parte do nitrogênio da dieta é consumida na forma de proteínas, perfazendo de 70 a 100 g/dia na dieta típica de um norte-americano (veja a Figura 19.2). As proteínas são geralmente grandes demais para serem absorvidas pelo intestino. (Nota: um exemplo de exceção a essa regra é o caso de recém-nascidos, que podem absorver anticorpos maternos presentes no leite, quando amamentados.) As proteínas, portanto, devem ser hidrolisadas, produzindo di e tripeptídeos, além de aminoácidos livres, compostos estes que podem ser absorvidos. As enzimas proteolíticas responsáveis pela degradação das proteínas são produzidas por três diferentes órgãos: estômago, pâncreas e intestino delgado (Figura 19.4).

**Figura 19.4**

Digestão de proteínas da dieta por enzimas proteolíticas do trato gastrointestinal.

A. Digestão das proteínas pela secreção gástrica

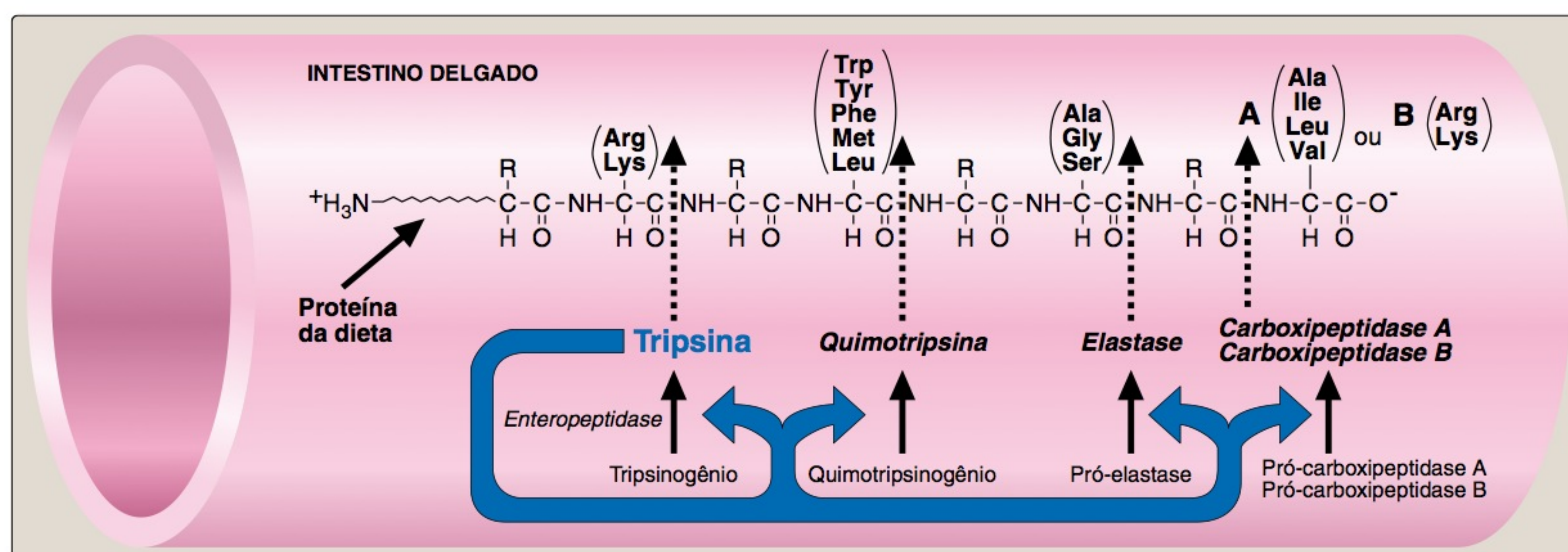
A digestão das proteínas começa no estômago, que secreta o suco gástrico – uma solução ímpar, ácido clorídrico e a pró-enzima pepsinogênio.

1. **Ácido clorídrico.** O ácido contido na secreção gástrica está muito diluído (pH 2 a 3) para hidrolisar proteínas. O ácido secretado pelas células parietais tem, contudo, outras funções: matar algumas bactérias e desnaturar proteínas, tornando-as assim mais suscetíveis à hidrólise subsequente por *proteases*.
2. **Pepsina.** A pepsina é uma *endopeptidase* estável em meio ácido, secretada pelas células principais do estômago na forma de zimogênio inativo (ou pró-enzima), o pepsinogênio. Em geral, os zimogênios contêm aminoácidos adicionais em suas sequências, o que os impede de serem cataliticamente ativos. (Nota: a remoção desses aminoácidos permite o dobramento correto necessário para ativação da enzima.) O pepsinogênio é ativado produzindo *pepsina*, seja pelo HCl ou de modo autocatalítico por outra molécula de *pepsina* já ativada. A pepsina libera peptídeos e poucos aminoácidos livres a partir das proteínas da dieta.

B. Digestão de proteínas por enzimas pancreáticas

Ao entrar no intestino delgado, os grandes polipeptídeos produzidos no estômago pela ação da *pepsina* são clivados por um grupo de *proteases* pancreáticas, resultando em oligopeptídeos e aminoácidos.

1. **Especificidade.** Cada uma dessas enzimas apresenta diferente especificidade para cada grupos R dos resíduos de aminoácidos adjacentes à ligação peptídica suscetível (Figura 19.5). Por exemplo, a *tripsina* cliva apenas quando o grupo carbonila da ligação peptídica é fornecido pela arginina ou pela lisina. Essas enzimas, assim como a *pepsina*, descrita anteriormente, são sintetizadas e secretadas na forma de zimogênios inativos.
2. **Liberação de zimogênios.** A liberação e a ativação dos zimogênios pancreáticos é mediada pela secreção de colecistocinina e de secretina, dois hormônios polipeptídicos do trato digestório (veja a p. 176).
3. **Ativação dos zimogênios.** A *enteropeptidase* (anteriormente chamada de *enterocinase*) – uma enzima sintetizada por células da mucosa intestinal e ali presente na superfície luminal da membrana em forma de escova – converte o zimogênio pancreático tripsinogênio em *tripsina* pela remoção de um hexapeptídeo da extremidade $-NH_2$ do tripsinogênio. Posteriormente, a *tripsina* converte outras moléculas de tripsinogênio em *tripsina* pela clivagem de um número limitado de ligações peptídicas específicas no tripsinogênio. A *enteropeptidase*, desse modo, desencadeia uma cascata de atividades proteolíticas, pois a *tripsina* é o ativador comum de todos os zimogênios pancreáticos (veja a Figura 19.5).
4. **Anormalidades na digestão de proteínas.** Em indivíduos com deficiência na secreção pancreática (p. ex., devido à pancreatite crônica, à fibrose cística ou à remoção cirúrgica do pâncreas), a digestão e a absorção de gorduras e proteínas são incompletas. Isso resulta no aparecimento anormal de lipídeos (denominado esteatorreia, veja a p. 177) e de proteínas não digeridas nas fezes.


Figura 19.5

Clivagem das proteínas da dieta por proteases do pâncreas. As ligações peptídicas suscetíveis à hidrólise estão mostradas para cada uma das cinco principais proteases pancreáticas. (Nota: as três primeiras enzimas são serina *endopeptidases*, ao passo que as duas últimas são *exopeptidases*.)

A doença celíaca (espru celíaco) é uma patologia autoimune caracterizada por prejuízos na absorção resultantes de lesão do intestino delgado, mediada pelo sistema imunitário, em resposta à ingestão de glúten (ou de gliadina, produzida a partir do glúten), uma proteína encontrada no trigo, na cevada e no centeio.

C. Digestão de oligopeptídeos por enzimas do intestino delgado

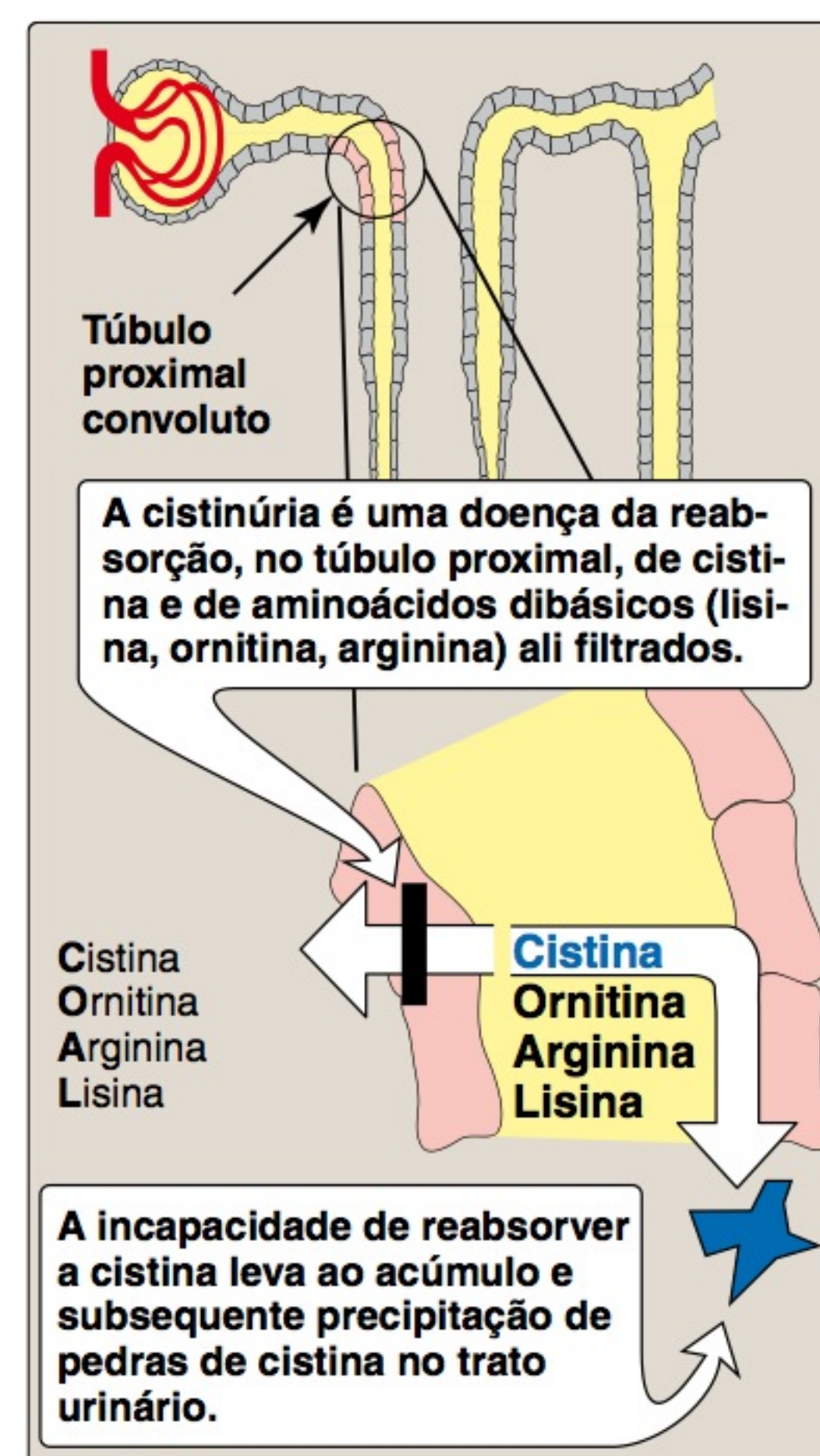
A superfície luminal do intestino contém a enzima *aminopeptidase* – uma exopeptidase que cliva repetidamente o resíduo N-terminal dos oligopeptídeos, produzindo peptídeos ainda menores e aminoácidos livres.

D. Absorção de aminoácidos e pequenos peptídeos

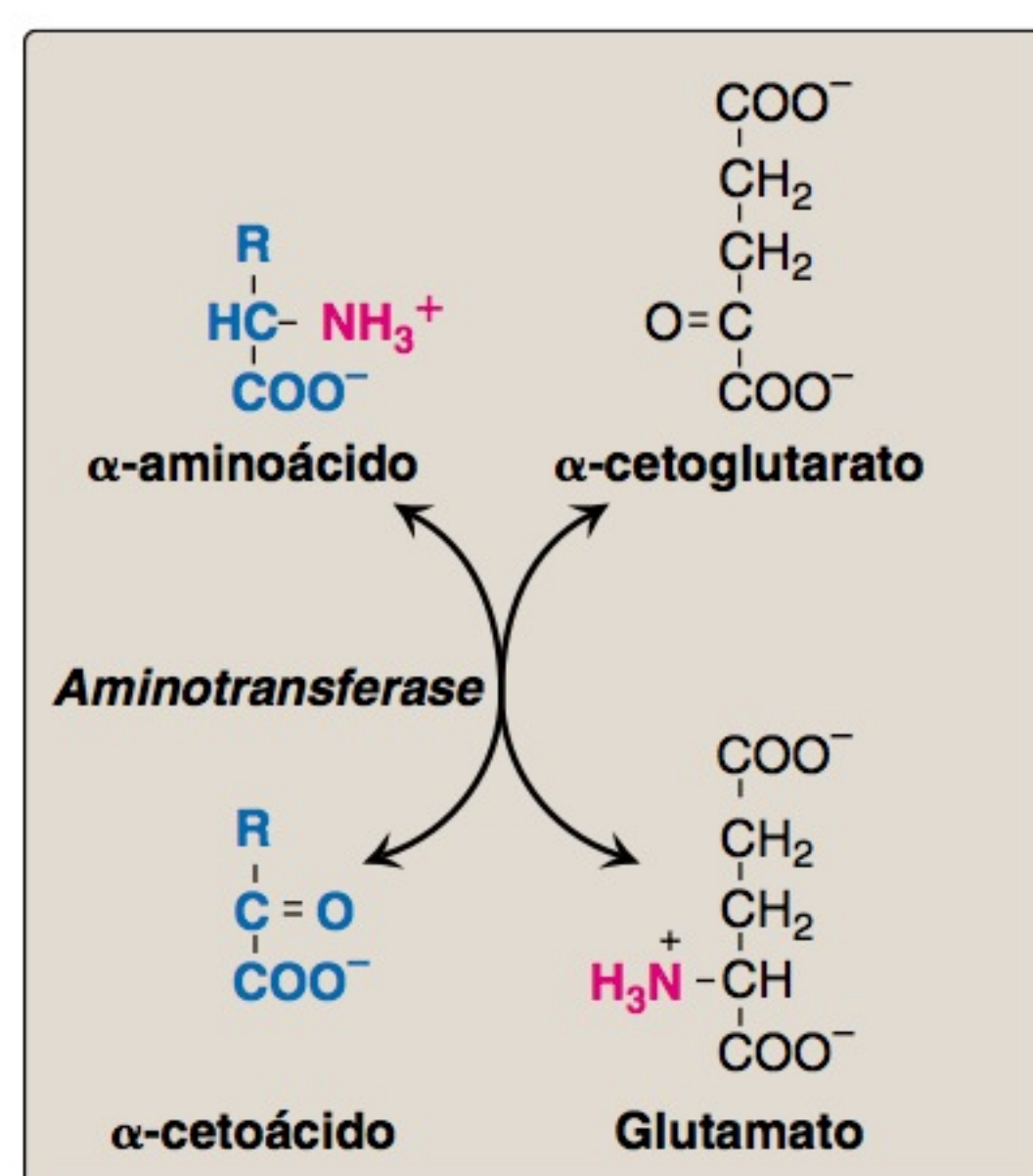
Os aminoácidos livres são captados pelos enterócitos por meio de um sistema de transporte secundário ligado ao Na^+ da membrana apical. Os dipeptídeos e os tripeptídeos, por outro lado, são captados por um sistema de transporte ligado a H^+ . Os peptídeos são hidrolisados no citosol, produzindo aminoácidos, antes de serem liberados para o sistema porta por difusão facilitada. Desse modo, apenas os aminoácidos livres são encontrados na veia porta após uma refeição contendo proteína. Esses aminoácidos são metabolizados pelo fígado ou liberados na circulação geral. (Nota: os aminoácidos de cadeia ramificada são exemplos importantes de aminoácidos não metabolizados pelo fígado; em vez disso, são enviados do fígado principalmente para o músculo, via circulação sanguínea.)

IV. TRANSPORTE DE AMINOÁCIDOS PARA O INTERIOR DAS CÉLULAS

As concentrações de aminoácidos livres nos fluidos extracelulares são significativamente mais baixas que aquelas dentro das células do organismo. Esse gradiente de concentração é mantido por sistemas de transporte ativo, impul-


Figura 19.6

Defeito genético observado na cistinúria. (Nota: a cistinúria é distinta da cistinose, um raro defeito do transporte da cistina para fora dos lisossomos, que resulta na formação de cristais de cistina dentro dos lisossomos, levando à lesão tecidual.)

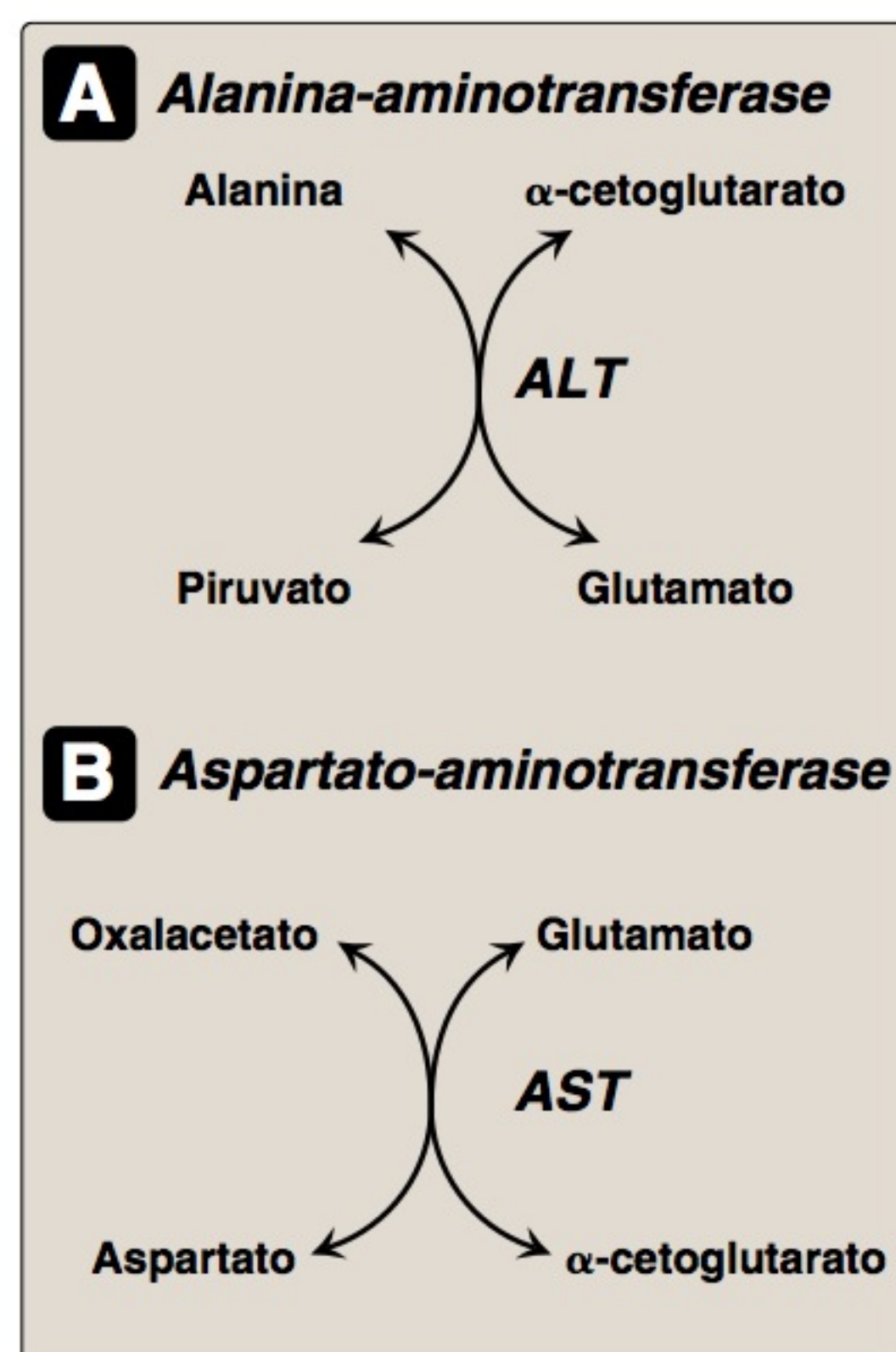
**Figura 19.7**

Reação de uma *aminotransferase*, utilizando α -cetoglutarato comoceptor do grupo amino.

sionados pela hidrólise do ATP, necessários para o movimento dos aminoácidos do espaço extracelular para dentro das células. Pelo menos sete diferentes sistemas de transporte são conhecidos, com especificidades que se sobrepõem em relação aos diferentes aminoácidos. O intestino delgado e os túbulos proximais dos rins apresentam sistemas de transporte em comum para a captação de aminoácidos; portanto, um defeito em qualquer desses sistemas resulta na incapacidade de absorver determinados aminoácidos pelo intestino e pelos túbulos renais. Por exemplo, um sistema de transporte é responsável pela captação de cistina e dos aminoácidos dibásicos ornitina, arginina e lisina (representados como "COAL"). Na doença hereditária cistinúria, esse sistema de carreador apresenta-se deficiente, resultando no aparecimento de todos os quatro aminoácidos na urina (Figura 19.6). A cistinúria ocorre com uma frequência de 1 em 7.000 indivíduos, o que a torna uma das doenças hereditárias mais comuns e o erro genético mais comum no transporte de aminoácidos. A doença expressa-se clinicamente pela precipitação de cistina, formando pedras renais (cálculos) que bloqueiam o trato urinário. A hidratação oral é parte importante do tratamento para essa doença. (Nota: defeitos no transporte de triptofano [e de outros aminoácidos neutros] podem resultar na doença de Hartnup e em sintomas dermatológicos e neurológicos semelhantes à pelagra [veja a p. 380].)

V. REMOÇÃO DO NITROGÊNIO DOS AMINOÁCIDOS

A presença do grupo α -amino mantém os aminoácidos a salvo da degradação oxidativa. Sua remoção, essencial para a produção de energia a partir de qualquer aminoácido, é um passo obrigatório no catabolismo de todos os aminoácidos. Uma vez removido, esse nitrogênio pode ser incorporado em outros compostos ou excretado, enquanto o esqueleto carbonado é metabolizado. Esta seção descreve a transaminação e a desaminação oxidativa – reações que fornecem, em última análise, a amônia e o aspartato, as duas fontes de nitrogênio para a ureia (veja a p. 253).

**Figura 19.8**

Reações catalisadas durante o catabolismo dos aminoácidos. A. Alanina-aminotransferase (ALT). B. Aspartato-aminotransferase (AST).

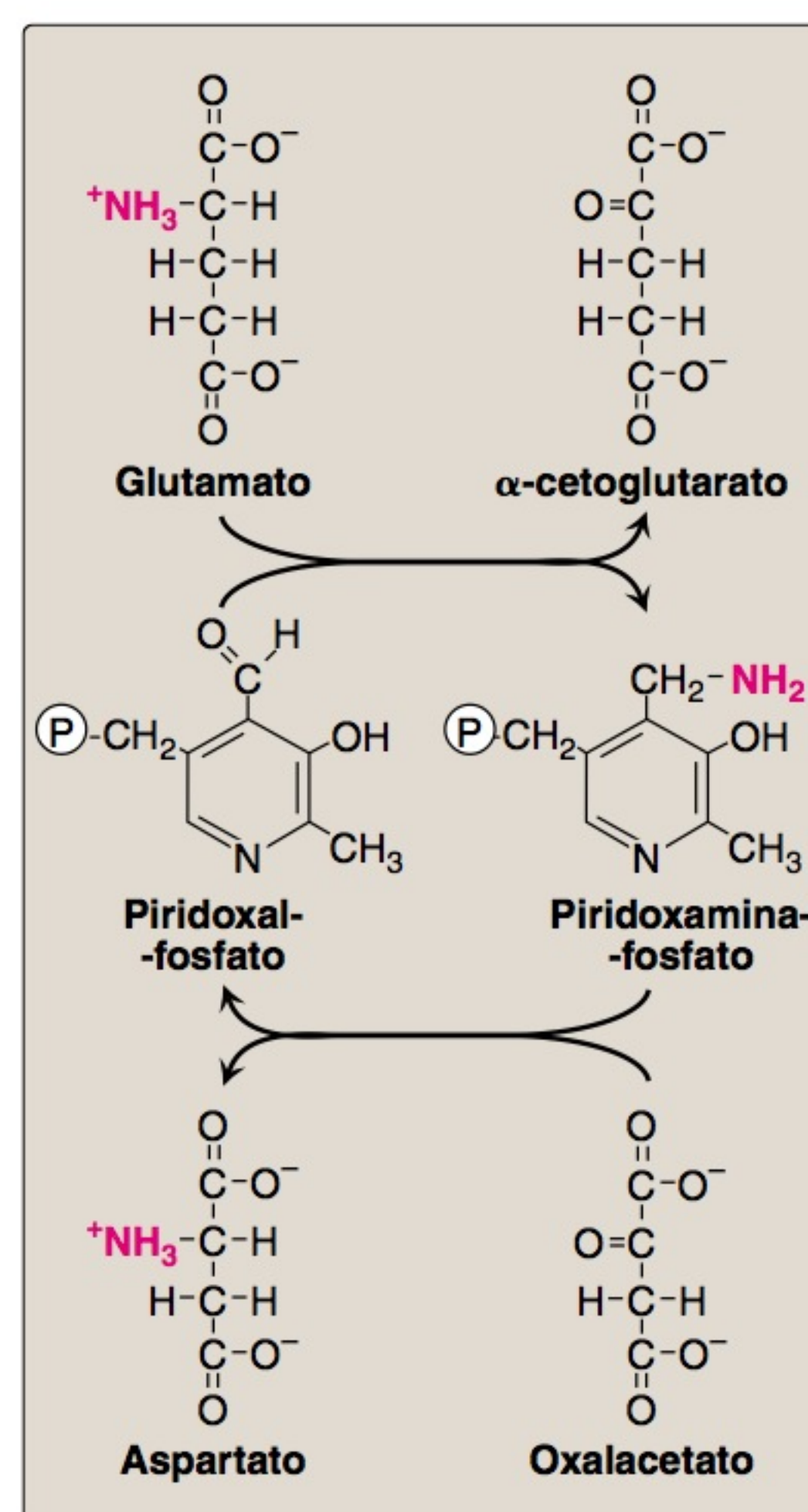
A. Transaminação: o afunilamento dos grupos amino em direção à síntese de glutamato

O primeiro passo no catabolismo da maioria dos aminoácidos é a transferência de seus grupos α -amino para o α -cetoglutarato (Figura 19.7). Os produtos são um α -cetoácido (derivado do aminoácido original) e o glutamato. O α -cetoglutarato desempenha papel central no metabolismo dos aminoácidos, aceitando grupos amino da maioria dos aminoácidos e transformando-se no glutamato. O glutamato produzido por transaminação pode ser desaminado oxidativamente (veja a seguir) ou utilizado como doador de grupo amino na síntese de aminoácidos não essenciais. Essa transferência de grupos amino de um esqueleto carbonado para outro é catalisada por uma família de enzimas denominadas *aminotransferases* (anteriormente chamadas *transaminases*). Essas enzimas são encontradas no citosol e na mitocôndria das células em todo o organismo – especialmente aquelas do fígado, rins, intestino e músculo. Todos os aminoácidos, com exceção da lisina e da treonina, participam em transaminações em algum ponto de seus catabolismos. (Nota: esses dois aminoácidos perdem seus grupos α -amino por desaminação [veja as p. 265-266].)

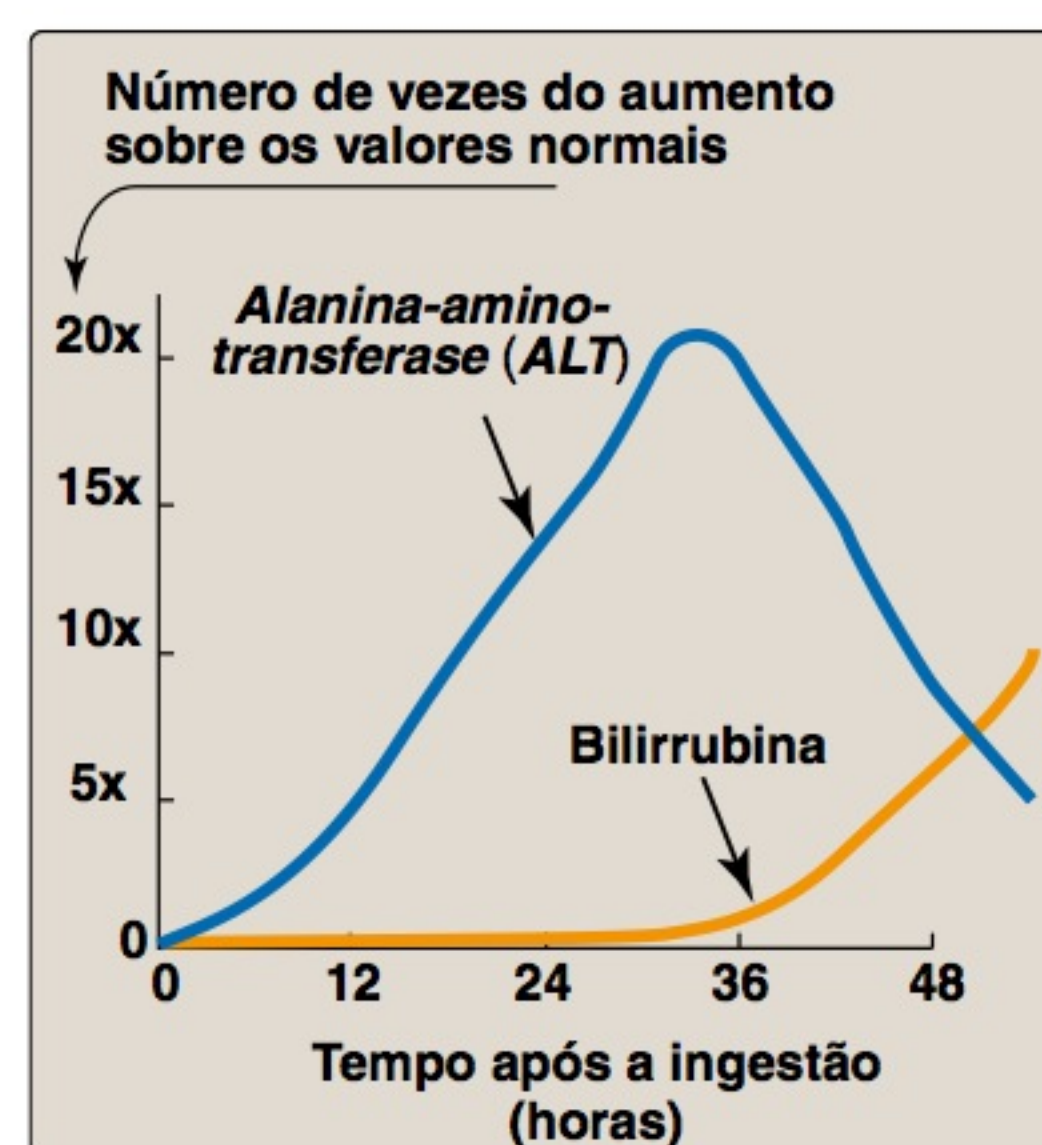
- Especificidade das aminotransferases quanto a seus substratos.** Cada *aminotransferase* é específica para um ou, no máximo, uns poucos doadores de grupos amino. As *aminotransferases* são designadas a partir do doador específico do grupo amino, pois o receptor do grupo amino é quase sempre o α -cetoglutarato. As duas reações mais importantes de *aminotransferases* são catalisadas pela alanina-aminotransferase (ALT) e pela aspartato-aminotransferase (AST) (Figura 19.8).

- a. **Alanina-aminotransferase (ALT).** A *ALT* está presente em muitos tecidos. A enzima catalisa a transferência do grupo amino da alanina para o α -cetoglutarato, resultando na formação de piruvato e glutamato. A reação é facilmente reversível. Durante o catabolismo dos aminoácidos, no entanto, essa enzima (como a maioria das *aminotransferases*) funciona na direção da síntese de glutamato. Desse modo, o glutamato atua, efetivamente, como um “coletor” de nitrogênio a partir da alanina.
 - b. **Aspartato-aminotransferase (AST).** a *AST* é uma exceção à regra de que as *aminotransferases* afunilam os grupos amino para formar glutamato. Durante o catabolismo dos aminoácidos, a *AST* transfere grupos amino do glutamato para o oxalacetato, formando aspartato, que é utilizado como fonte de nitrogênio no ciclo da ureia (veja a p. 253). (Nota: a reação da *AST* é também reversível.)
2. **Mecanismo de ação das aminotransferases.** Todas as *aminotransferases* requerem a coenzima piridoxal-fosfato (um derivado da vitamina B₆, veja a p. 378), que está covalentemente ligada ao grupo ε -amino de um resíduo específico de lisina no sítio ativo da enzima. As *aminotransferases* atuam transferindo o grupo amino de um aminoácido para a porção piridoxal da coenzima, gerando piridoxamina-fosfato. A forma piridoxamina da coenzima reage então com um α -cetoácido para formar um aminoácido, ao mesmo tempo regenerando a forma aldeído original da coenzima. A Figura 19.9 mostra essas duas reações componentes para a reação catalisada pela *AST*.
 3. **Equilíbrio das reações de transaminação.** Para a maioria das reações de transaminação, a constante de equilíbrio aproxima-se de um, permitindo que a reação funcione em ambos os sentidos: degradação do aminoácido pela remoção do grupo α -amino (p. ex., após o consumo de uma refeição rica em proteínas) e biossíntese pela adição de grupos amino a esqueletos carbonados de α -cetoácidos (p. ex., quando o suprimento de aminoácidos a partir da dieta não for adequado para satisfazer as necessidades de síntese das células).
 4. **Valor diagnóstico das aminotransferases plasmáticas.** As *aminotransferases* são, normalmente, enzimas intracelulares, de modo que os baixos níveis observados no plasma representam a liberação de conteúdos celulares durante a renovação celular normal. A presença de níveis plasmáticos elevados de *aminotransferases* indica lesão em células ricas nessas enzimas. Por exemplo, traumas físicos ou processos patológicos podem causar lise celular, resultando na liberação de enzimas intracelulares para o sangue. Duas *aminotransferases* – *AST* e *ALT* – são de especial valor diagnóstico quando aparecem no plasma.

- a. **Doença hepática.** Os níveis plasmáticos de *AST* e *ALT* estão elevados em quase todas as doenças hepáticas, mas estão especialmente altos em condições que causam ampla necrose celular, como hepatite viral grave, lesão tóxica e colapso circulatório prolongado. A *ALT* é mais específica que a *AST* para doenças hepáticas, mas esta última é mais sensível, pois o fígado contém maiores quantidades de *AST*. Medidas enzimáticas seriais são frequentemente úteis para a determinação da evolução do dano hepático. A Figura 19.10 mostra a liberação inicial de *ALT* no


Figura 19.9

Interconversão cíclica de piridoxal-fosfato e piridoxamina-fosfato, durante a reação da *aspartato-aminotransferase*. (Nota: $\textcircled{P}$ = grupo fosfato.)


Figura 19.10

Padrão observado para a *alanina-aminotransferase* (ALT) sérica e para a bilirrubina plasmática após envenenamento com o cogumelo tóxico *Amanita phalloides*.

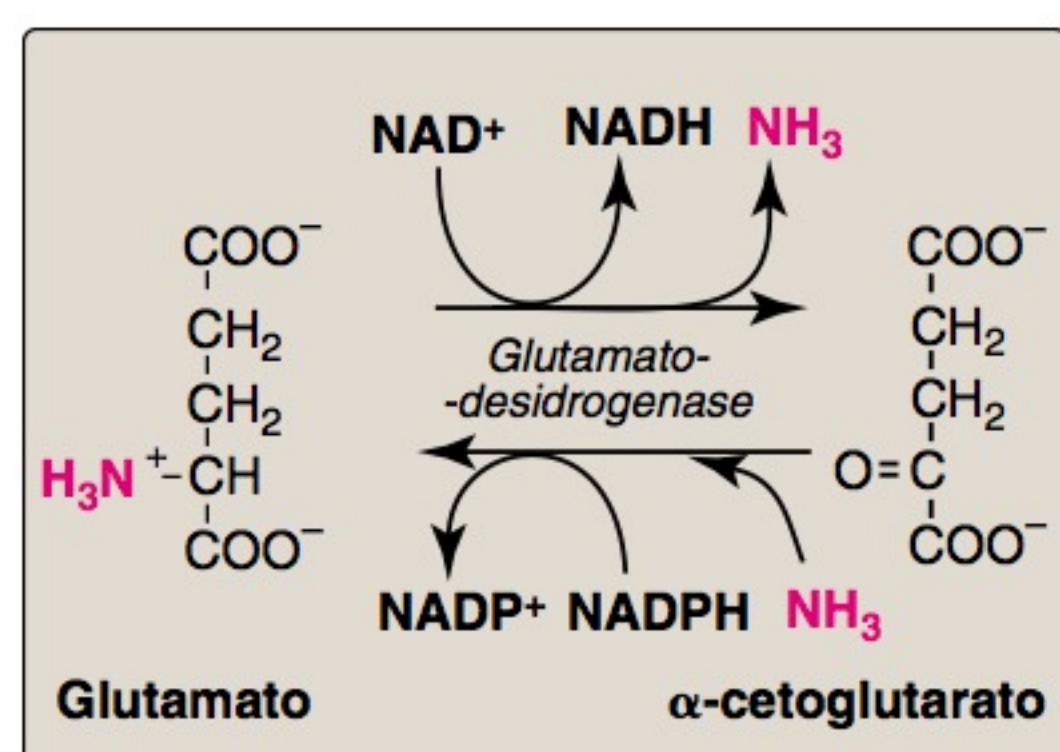


Figura 19.11

Desaminação oxidativa pela *glutamato-desidrogenase*.

soro após a ingestão de uma toxina hepática. (Nota: a bilirrubina sérica elevada resulta de lesão hepatocelular, que diminui a conjugação hepática e a excreção de bilirrubina [veja a p. 284].)

- b. **Doença não hepática.** As *aminotransferases* podem estar elevadas em doenças não hepáticas, como infarto do miocárdio e doenças musculares. Essas doenças, no entanto, são em geral clinicamente distintas das doenças hepáticas.

B. Glutamato-desidrogenase: a desaminação oxidativa dos aminoácidos

Em contraste com as reações de transaminação, que transferem grupos amino, a desaminação oxidativa pela *glutamato-desidrogenase* resulta na liberação do grupo amino como amônia livre (NH_3) (Figura 19.11). Essas reações ocorrem principalmente no fígado e no rim. Elas fornecem α -cetoácidos, que podem entrar nas vias centrais do metabolismo energético, e amônia, fonte de nitrogênio na síntese de ureia.

1. **Glutamato-desidrogenase.** Como descrito anteriormente, os grupos amino da maioria dos aminoácidos são, no final, afunilados na síntese de glutamato, por meio de transaminação com o α -cetoglutarato. O glutamato é singular: é o único aminoácido que sofre rápida desaminação oxidativa – uma reação catalisada pela *glutamato-desidrogenase* (veja a Figura 19.11). Portanto, a ação sequencial da transaminação (resultando na coleta de grupos amino de outros aminoácidos, que são inseridos no α -cetoglutarato, produzindo glutamato), com a subsequente desaminação oxidativa desse glutamato (regenerando α -cetoglutarato), fornece uma via por meio da qual os grupos amino da maioria dos aminoácidos podem ser liberados como amônia.

- a. **Coenzimas.** A *glutamato-desidrogenase* é incomum, pois pode utilizar tanto o NAD^+ quanto o NADP^+ como coenzima (veja a Figura 19.11). O NAD^+ é utilizado principalmente na desaminação oxidativa (a perda de amônia acoplada à oxidação do esqueleto carbonado, Figura 19.12A). Por sua vez, o NADPH é utilizado na aminação redutora (o ganho de amônia acoplado à redução do esqueleto carbonado, Figura 19.12B).

- b. **Sentido das reações.** O sentido da reação depende das concentrações relativas de glutamato, α -cetoglutarato e amônia e da razão entre coenzimas oxidadas e reduzidas. Por exemplo, após a ingestão de uma refeição contendo proteína, os níveis de glutamato no fígado estão elevados, e a reação ocorre no sentido da degradação de aminoácidos e da formação de amônia (veja a Figura 19.12A). (Nota: a reação também pode ser utilizada para sintetizar aminoácidos a partir dos α -cetoácidos correspondentes [veja a Figura 19.12B].)

- c. **Reguladores alostéricos.** O trifosfato de guanosina (GTP) é inibidor alostérico da *glutamato-desidrogenase*, ao passo que o difosfato de adenosina (ADP) é ativador dessa enzima. Desse modo, quando os níveis energéticos estão baixos na célula, a degradação dos aminoácidos pela *glutamato-desidrogenase* está aumentada, facilitando a produção de energia a partir dos esqueletos carbonados derivados dos aminoácidos.

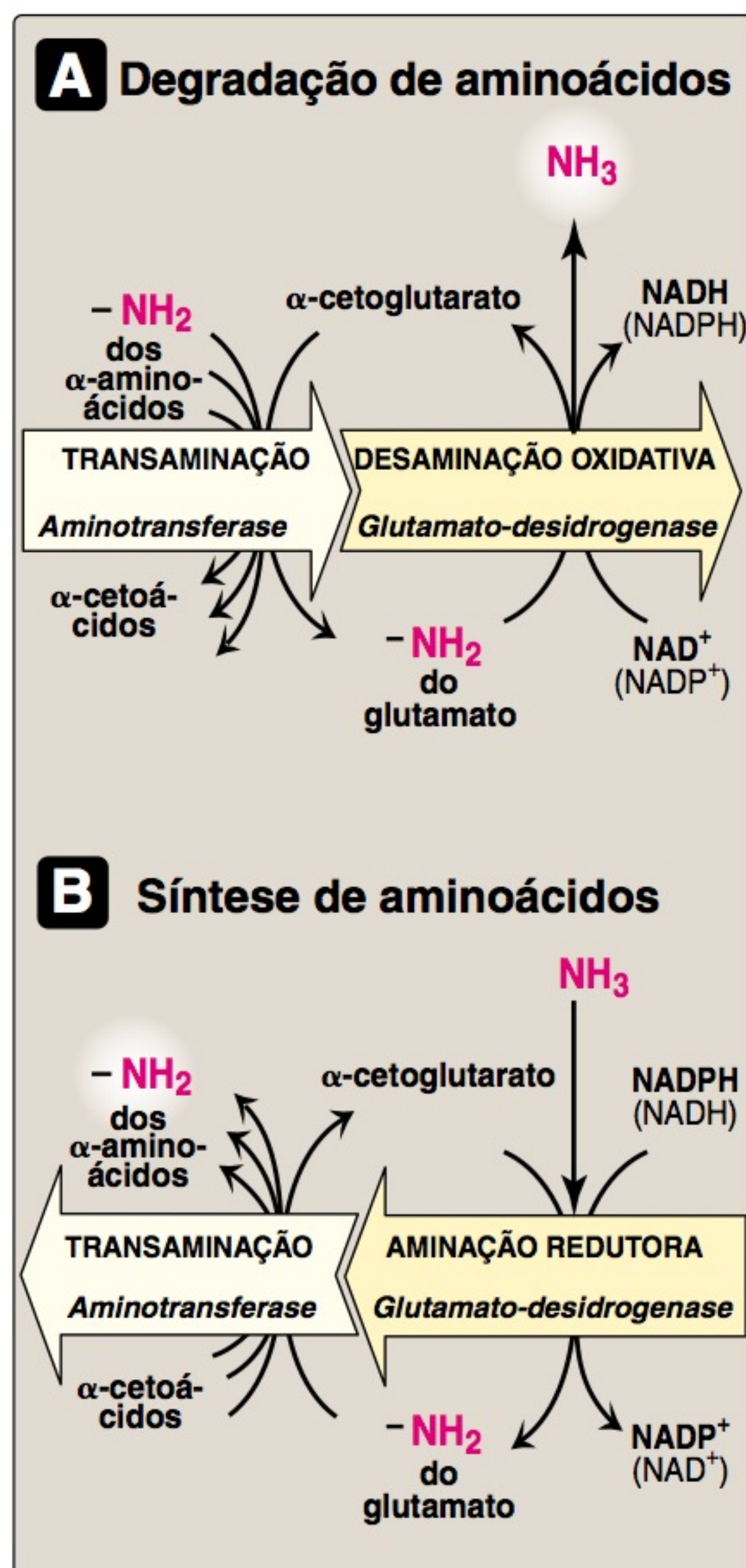


Figura 19.12

Ações combinadas das reações das *aminotransferases* e da *glutamato-desidrogenase*.

2. **D-aminoácido-oxidase.** Os D-aminoácidos (veja a p. 5) são encontrados em plantas e nas paredes celulares de microrganismos, mas não são utilizados na síntese de proteínas de mamíferos. No entanto, os D-aminoácidos presentes na dieta são eficientemente metabolizados pelo rim e pelo fígado. A D-aminoácido-oxidase (DAO) é uma enzima peroxissomal dependente de FAD que catalisa a desaminação oxidativa desses isômeros de aminoácidos, produzindo α -cetoácidos, amônia e peróxido de hidrogênio. Os α -cetoácidos resultantes podem entrar nas vias gerais do metabolismo dos aminoácidos, sendo novamente aminados em L-isômeros ou sendo catabolizados para produzir energia. (Nota: a DAO degrada D-serina, a forma isomérica da serina que modula receptores de glutamato do tipo NMDA. Uma atividade aumentada da DAO tem sido relacionada a aumento na suscetibilidade à esquizofrenia.) As L-aminoácido oxidases são componentes de diversos venenos de serpentes.

C. Transporte de amônia para o fígado

Dois mecanismos são utilizados em humanos para o transporte da amônia dos tecidos periféricos até o fígado para sua conversão final em ureia. O primeiro, presente na maioria dos tecidos, utiliza *glutamina-sintetase* para combinar amônia (NH_3) com glutamato e formar glutamina – forma não tóxica de transporte da amônia (Figura 19.13). A glutamina é transportada no sangue para o fígado, onde é clivada pela *glutaminase* para produzir glutamato e amônia livre (veja a p. 256). O segundo mecanismo de transporte, utilizado principalmente pelo músculo, envolve a transaminação do piruvato (produto final da glicólise aeróbia) para formar alanina (veja a Figura 19.8). A alanina é transportada pelo sangue para o fígado, onde é novamente convertida em piruvato por transaminação. No fígado, a via da gliconeogênese pode utilizar o piruvato para sintetizar glicose, que pode ir para o sangue e ser utilizada pelo músculo – via denominada ciclo da glicose-alanina.

VI. O CICLO DA UREIA

A ureia é a principal forma de eliminação dos grupos amino oriundos dos aminoácidos e perfaz cerca de 90% dos componentes nitrogenados da urina. Um átomo de nitrogênio da molécula de ureia é fornecido por NH_3 livre, e o outro nitrogênio é fornecido pelo aspartato. (Nota: o glutamato é o precursor imediato tanto do nitrogênio da amônia [por desaminação oxidativa pela *glutamato-desidrogenase*] quanto do nitrogênio do aspartato [por transaminação do oxalacetato pela AST].) O carbono e o oxigênio da ureia são derivados do CO_2 . A ureia é produzida pelo fígado e então transportada pelo sangue até os rins, para ser excretada na urina.

A. As reações do ciclo

As duas primeiras reações que levam à síntese de ureia ocorrem na mitocôndria, ao passo que as demais enzimas do ciclo estão localizadas no citosol (Figura 19.14). (Nota: a gliconeogênese (veja a p. 117) e a síntese do heme (veja a p. 278) também envolvem tanto a matriz mitocondrial quanto o citosol.)

1. **Formação do carbamoil-fosfato.** A formação de carbamoil-fosfato pela *carbamoil-fosfato-sintetase I* é impulsionada pela clivagem de duas moléculas de ATP. A amônia incorporada no carbamoil-fosfato é fornecida principalmente pela desaminação oxidativa do glutamato, catalisada pela *glutamato-desidrogenase* mitocondrial (veja a Figura

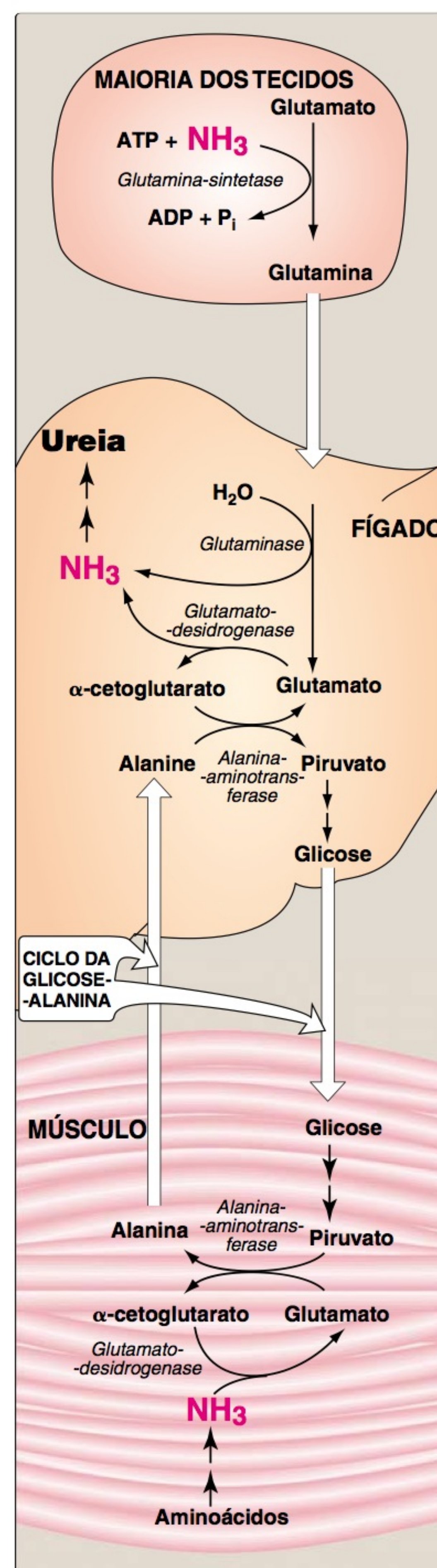


Figura 19.13

Transporte da amônia dos tecidos periféricos para o fígado.

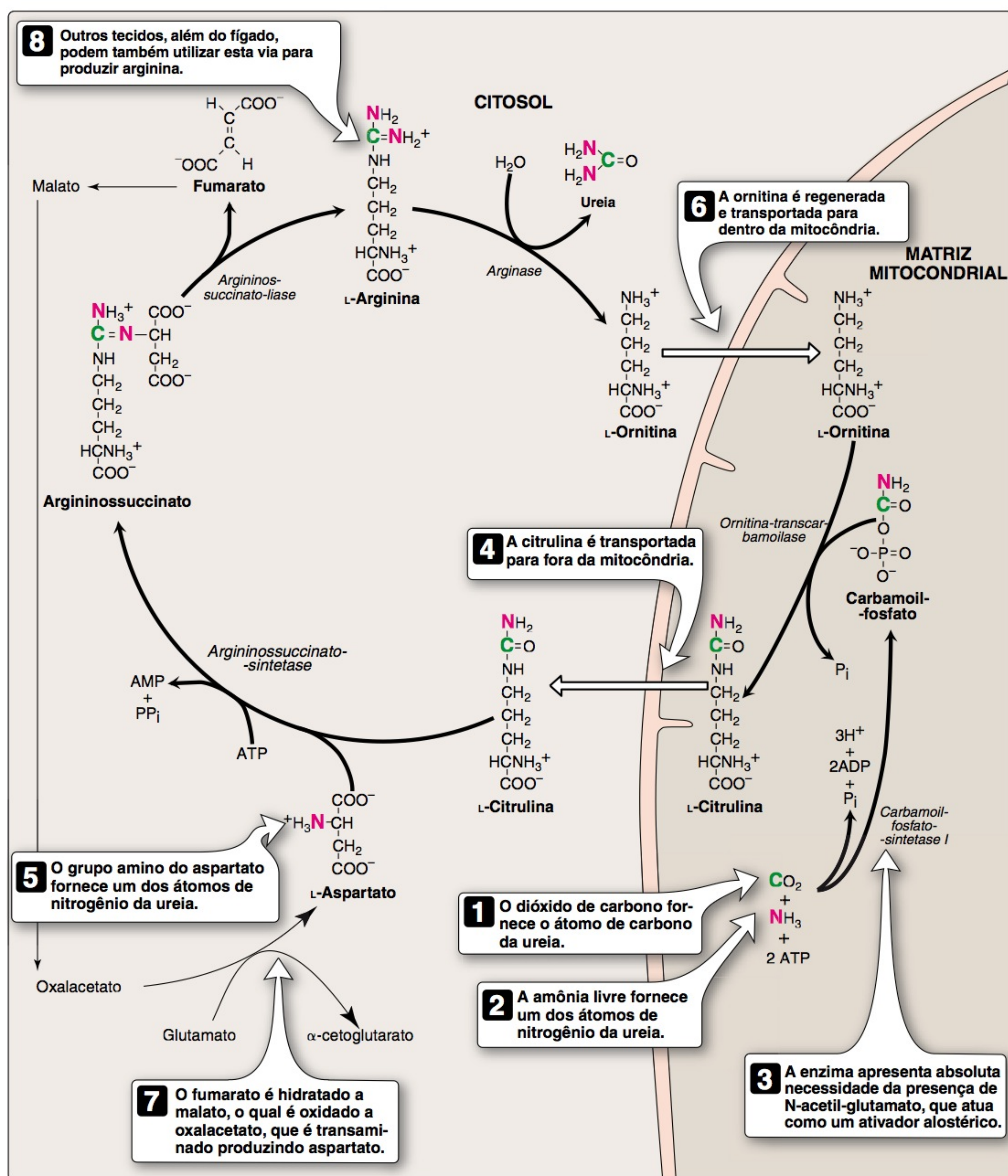


Figura 19.14

As reações do ciclo da ureia.

19.11). No final, o átomo de nitrogênio originário dessa amônia torna-se um dos nitrogênios da ureia. A *carbamoil-fosfato-sintetase I* requer N-acetil-glutamato como ativador alostérico positivo (veja a Figura 19.14). (Nota: a *carbamoil-fosfato-sintetase II* participa na biossíntese das pirimidinas [veja a p. 302]. Ela não necessita de N-acetil-glutamato, utiliza glutamina como fonte de nitrogênio e a reação ocorre no citosol.)

2. **Formação de citrulina.** A porção carbamoila do carbamoil-fosfato é transferida para a ornitina pela *ornitina transcarbamoilase (OTC)* ao mesmo tempo em que é hidrolisada uma ligação fosfato de alta energia, sendo o fosfato liberado como P_i . O produto da reação, a citrulina, é transportado para o citosol. (Nota: a ornitina e a citrulina são aminoácidos básicos que participam do ciclo da ureia, movendo-se através da membrana mitocondrial interna via um cotransportador. Esses aminoácidos não são incorporados nas proteínas celulares, pois não há códons para eles [veja a p. 432].) A ornitina é regenerada a cada volta do ciclo da ureia, de modo bastante semelhante à regeneração do oxalacetato pelas reações do ciclo do ácido cítrico (veja a p. 109).
3. **Síntese do argininossuccinato.** A citrulina condensa-se com o aspartato, numa reação catalisada pela *argininossuccinato sintetase*, para formar argininossuccinato. O grupo α -amino do aspartato fornece o segundo nitrogênio que, no final, será incorporado na ureia. A formação do argininossuccinato é possibilitada pela clivagem do ATP em monofosfato de adenosina (AMP) e pirofosfato (PP_i). Essa é a terceira e última molécula de ATP consumida na formação da ureia.
4. **Clivagem do argininossuccinato.** O argininossuccinato é clivado pela *argininossuccinato liase*, produzindo arginina e fumarato. A arginina formada nessa reação serve como precursor imediato da ureia. O fumarato produzido no ciclo da ureia é hidratado, gerando malato, fornecendo um elo de ligação com diversas vias metabólicas. Por exemplo, o malato pode ser transportado para a mitocôndria via lançadeira do malato e entrar novamente no ciclo do ácido cítrico, sendo oxidado a oxalacetato (OAA), o qual pode ser usado para a gliconeogênese (veja a p. 120). Alternativamente, o OAA pode ser convertido em aspartato via transaminação (veja a Figura 19.8) e entrar no ciclo da ureia (veja a Figura 19.14).
5. **Clivagem da arginina, resultando em ornitina e ureia.** A *arginase* cliva a arginina em ornitina e ureia. Essa enzima ocorre quase exclusivamente no fígado. Dessa forma, enquanto outros tecidos (como o rim) podem sintetizar arginina por meio dessas reações, apenas o fígado pode clivar a arginina e, na sequência, sintetizar a ureia.
6. **Destino da ureia.** Depois de sair do fígado por difusão, a ureia é transportada no sangue até os rins, onde é filtrada e excretada na urina. Parte da ureia difunde do sangue para o intestino, onde é clivada em CO_2 e NH_3 pela *urease* bacteriana. Essa amônia é parcialmente perdida nas fezes e parcialmente reabsorvida para o sangue. Em pacientes com insuficiência renal, os níveis de ureia no plasma aumentam, promovendo maior transferência de ureia do sangue para o intestino. A ação da *urease* intestinal sobre essa ureia torna-se uma fonte clinicamente importante de amônia, contribuindo para a hiperamonemia frequentemente observada nesses pacientes. A administração oral de neomicina reduz o número de bactérias intestinais responsáveis pela produção de NH_3 .

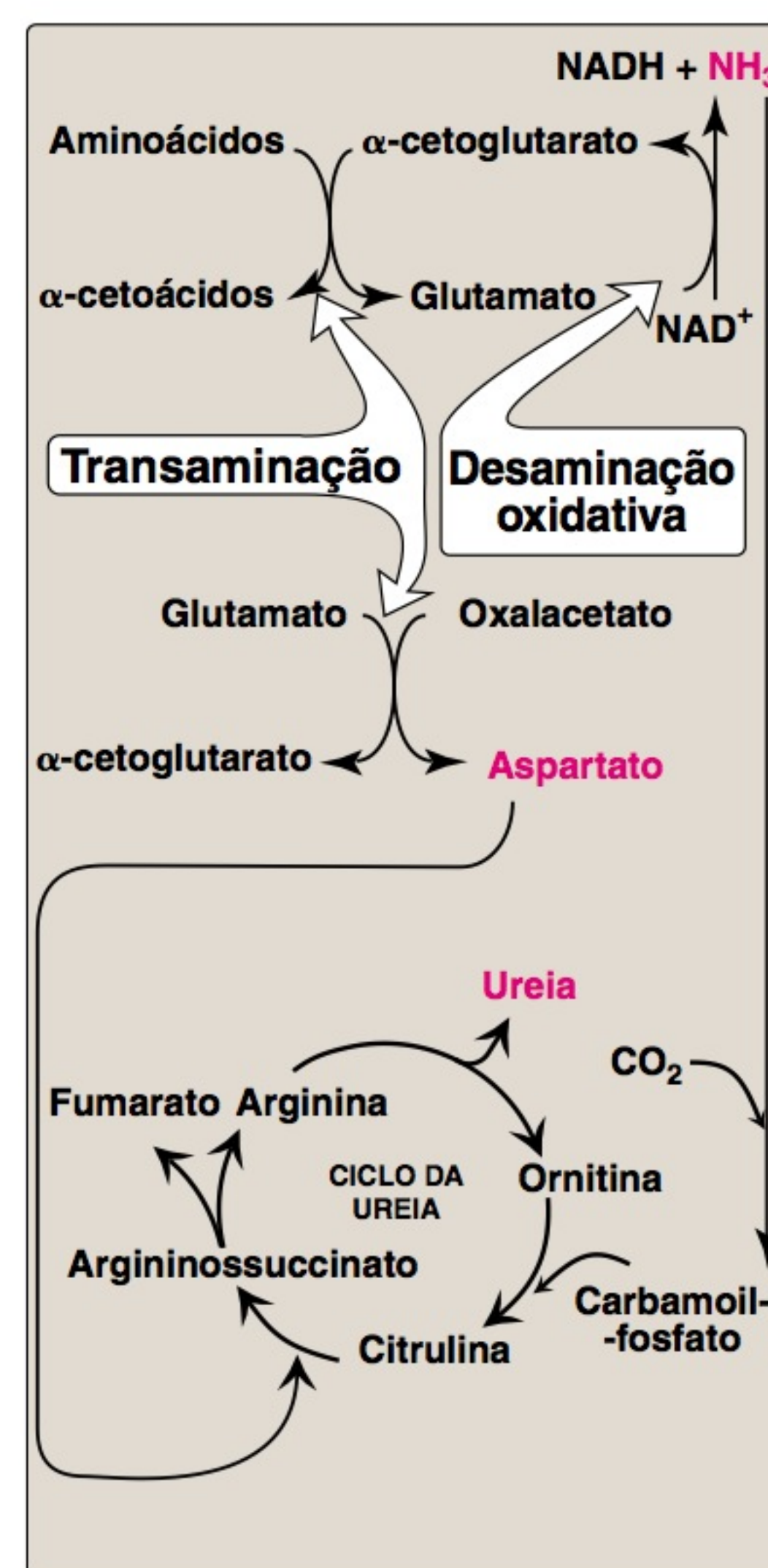


Figura 19.15

O fluxo de nitrogênio dos aminoácidos para a ureia. Os grupos amino utilizados na síntese da ureia são coletados na forma de amônia e aspartato.

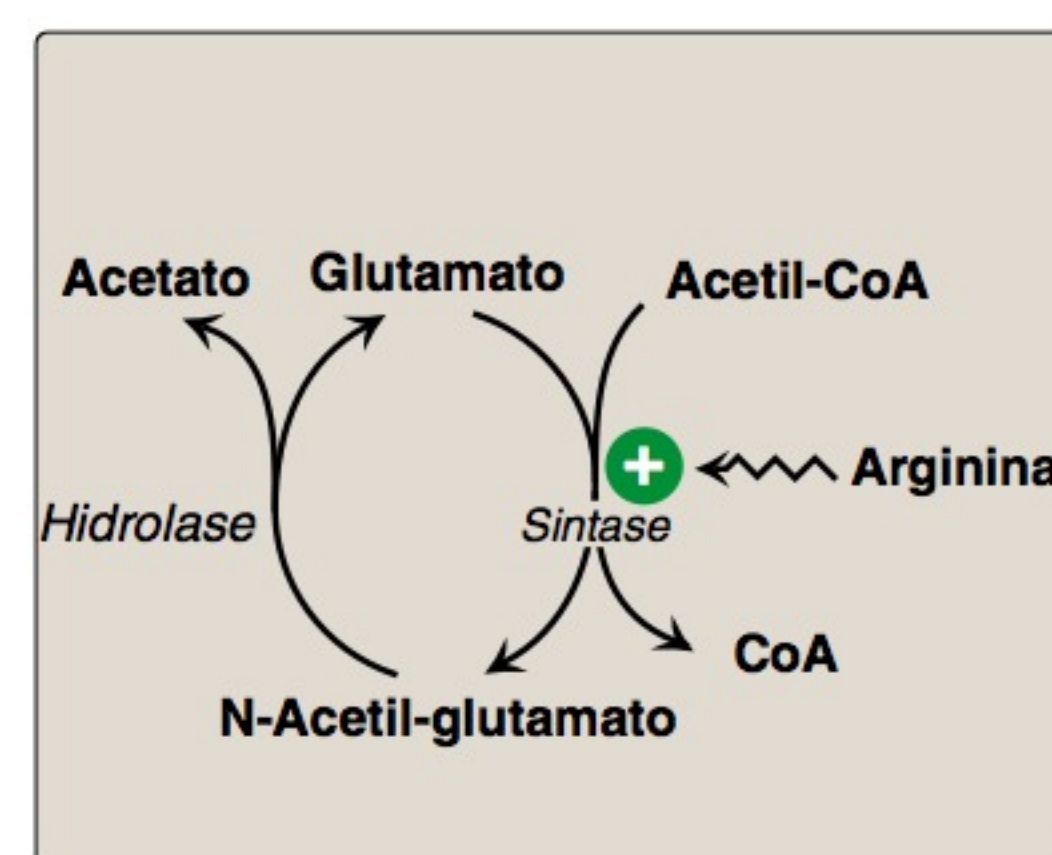
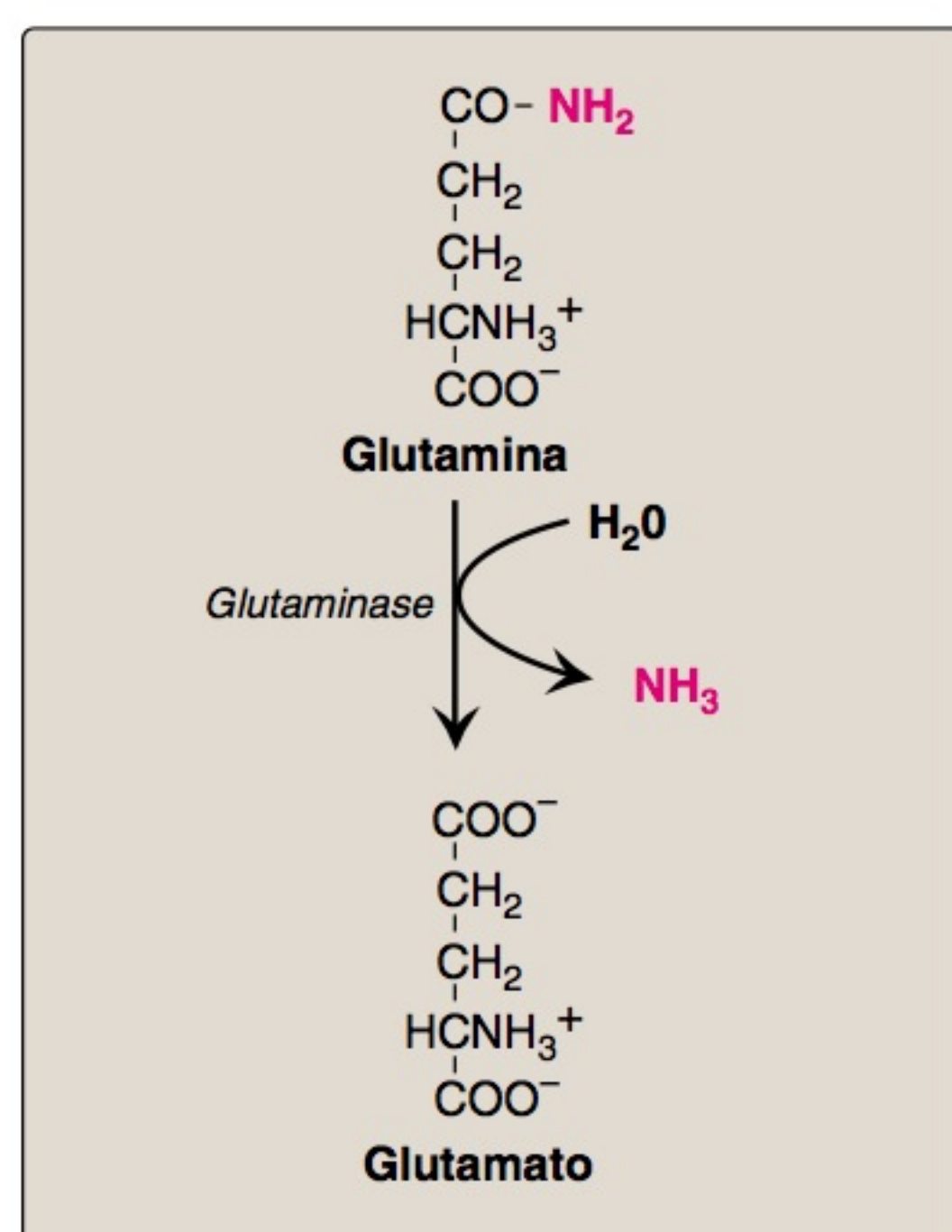


Figura 19.16

Formação e degradação do N-acetil-glutamato, um ativador alostérico da *carbamoil-fosfato-sintetase I*.

**Figura 19.17**

Hidrólise da glutamina, produzindo amônia.

B. Estequiometria geral do ciclo da ureia



Quatro fosfatos de alta energia são consumidos na síntese de cada molécula de ureia. Portanto, a síntese de ureia é irreversível, com um ΔG bastante negativo (veja a p. 70). (Nota: o ATP é novamente sintetizado pela fosforilação oxidativa.) Um nitrogênio da molécula de ureia é fornecido pela NH₃ livre e o outro nitrogênio pelo aspartato. O glutamato é o precursor imediato de ambos os nitrogênios, o da amônia (por desaminação oxidativa, catalisada pela *glutamato-desidrogenase*) e o do aspartato (por transaminação a partir do oxalacetato, catalisada pela *AST*). Assim, ambos os átomos de nitrogênio da ureia originam-se efetivamente do glutamato, que, por sua vez, recolhe o nitrogênio de outros aminoácidos (Figura 19.15).

C. Regulação do ciclo da ureia

O N-acetil-glutamato é um ativador essencial da *carbamoil-fosfato-sintetase I* – o passo limitante da velocidade para o ciclo da ureia (veja a Figura 19.14). O N-acetil-glutamato é sintetizado a partir da acetil-coenzima A e do glutamato pela *N-acetil-glutamato-sintase* (Figura 19.16), em uma reação ativada pela arginina. Assim, a concentração intra-hepática de N-acetil-glutamato aumenta após a ingestão de uma refeição rica em proteína, que fornece tanto o substrato (glutamato) quanto o regulador da síntese de N-acetil-glutamato. Isso leva ao aumento na velocidade de síntese de ureia.

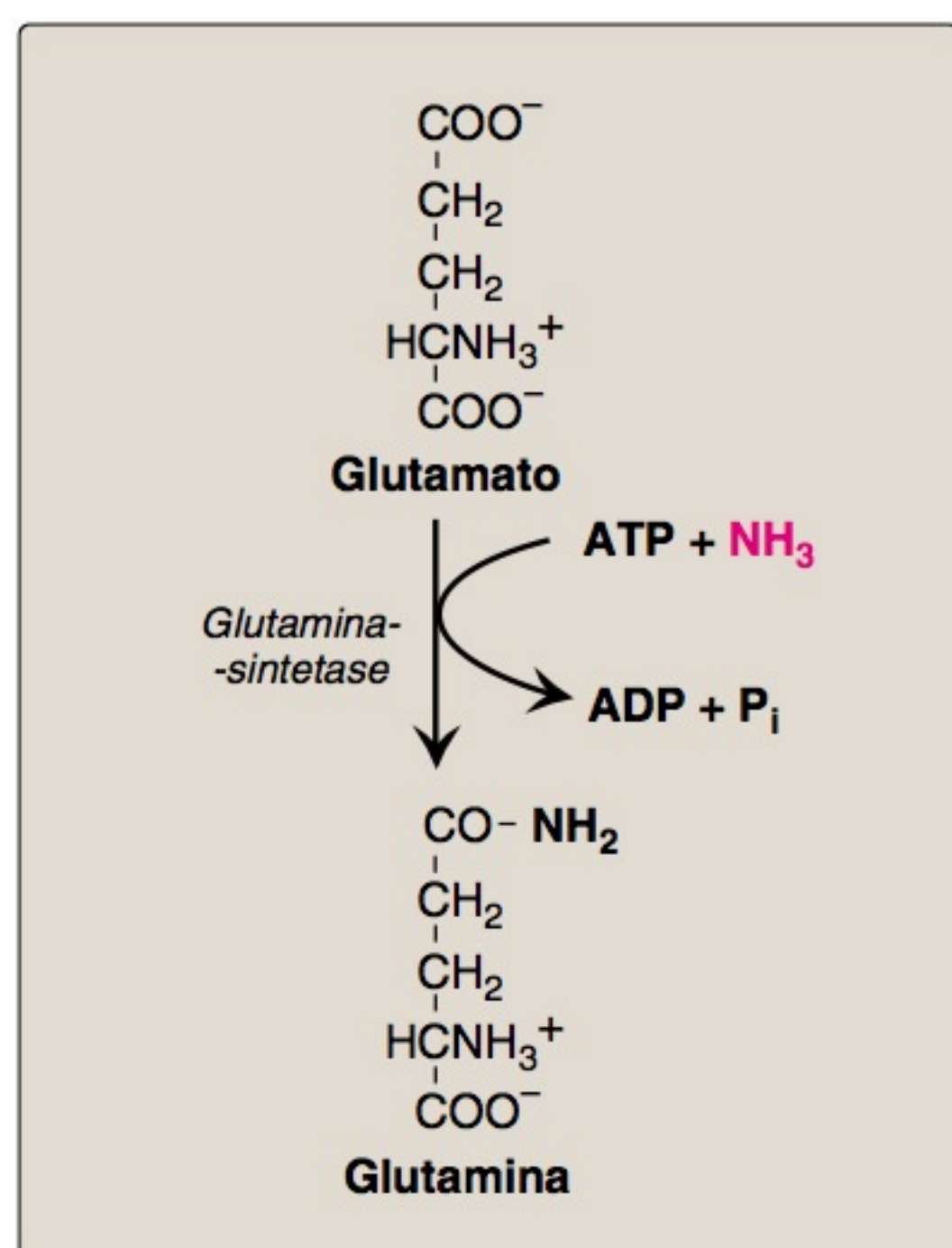
VII. O METABOLISMO DA AMÔNIA

A amônia é produzida por todos os tecidos durante o metabolismo de uma variedade de compostos e é eliminada principalmente pela formação de ureia no fígado. O nível de amônia no sangue, no entanto, deve ser mantido muito baixo, pois mesmo concentrações ligeiramente aumentadas (hiperamônemia) são tóxicas para o sistema nervoso central (SNC). Deve haver, portanto, um mecanismo metabólico para remover o nitrogênio dos tecidos periféricos e levá-lo até o fígado para a transformação em ureia, ao mesmo tempo em que são mantidos baixos os níveis de amônia circulantes.

A. Fontes de amônia

Os aminoácidos são, quantitativamente, a mais importante fonte de amônia, pois a maior parte das dietas ocidentais apresenta conteúdo alto de proteínas, fornecendo excesso de aminoácidos, que viajam ao fígado e sofrem transdesaminação – o processo que engloba as reações das aminotransferases e da *glutamato-desidrogenase* – produzindo amônia. Quantidades significativas de amônia podem, no entanto, ser obtidas a partir de outras fontes.

1. **A partir da glutamina.** Os rins produzem amônia a partir da glutamina, pela ação da *glutaminase* renal (Figura 19.17) e da *glutamato-desidrogenase*. A maior parte dessa amônia é excretada na urina como NH₄⁺, o que fornece um mecanismo importante para a manutenção do balanço acidobásico do organismo, pela excreção de prótons. A amônia é também obtida pela hidrólise da glutamina pela *glutaminase* intestinal. As células da mucosa intestinal obtêm glutamina a partir do sangue ou da digestão de proteína da dieta. (Nota: o metabolismo da glutamina no intestino produz citrulina, que segue para os rins e é utilizada na síntese da arginina.)

**Figura 19.18**

Síntese da glutamina.

2. **Pela ação bacteriana no intestino.** A amônia é produzida a partir da ureia por ação da *urease* bacteriana no lúmen intestinal. Essa amônia é absorvida pelo intestino, atinge a veia porta e é quase quantitativamente removida pelo fígado, pela conversão em ureia.
3. **A partir de aminos.** As aminos obtidas da dieta e as monoamidas utilizadas como hormônios ou neurotransmissores podem produzir amônia por ação da *aminoxidase* (veja a p. 286).
4. **A partir de purinas e pirimidinas.** No catabolismo das purinas e das pirimidinas, os grupos amino ligados aos anéis são liberados como amônia.

B. Transporte da amônia na circulação

Apesar de ser produzida constantemente nos tecidos, a amônia está presente em níveis muito baixos no sangue. Isso acontece devido à rápida remoção da amônia do sangue pelo fígado e ao fato de que muitos tecidos (em especial o músculo) liberam o nitrogênio dos aminoácidos na forma de glutamina ou alanina, em vez de liberá-lo como amônia livre (veja a Figura 19.13).

1. **Ureia.** A formação de ureia no fígado é, quantitativamente, a via mais importante de eliminação da amônia. A ureia circula no sangue, do fígado para os rins, onde passa pela filtração glomerular.
2. **Glutamina.** Essa amida do ácido glutâmico fornece uma forma de armazenamento e de transporte não tóxicos para a amônia (Figura 19.18). A formação de glutamina a partir de glutamato e de amônia, pela *glutamina-sintetase*, requer ATP. Essa formação ocorre principalmente no músculo e no fígado, mas também é importante no sistema nervoso central, sendo o principal mecanismo de remoção da amônia no encéfalo. A glutamina é encontrada no plasma em concentrações mais altas que outros aminoácidos – achado consistente com sua função de transporte. A glutamina circulante é removida pelo fígado e pelos rins e desaminada pela *glutaminase*. No fígado, a NH_3 produzida é detoxificada por sua conversão em ureia, e no rim ela pode ser usada para a excreção de prótons. O metabolismo da amônia está resumido na Figura 19.19.

C. Hiperamonemia

A capacidade do ciclo hepático da ureia excede as velocidades normais de produção de amônia, e os níveis de amônia sérica são normalmente baixos (5 a 35 $\mu\text{mol/L}$). No entanto, quando a função hepática está comprometida, devido a defeitos genéticos no ciclo da ureia ou doença hepática, os níveis sanguíneos de amônia podem elevar-se acima de 1.000 $\mu\text{mol/L}$. Essa hiperamonemia é uma emergência médica, pois a amônia apresenta efeito neurotóxico direto no SNC. Por exemplo, concentrações elevadas de amônia no sangue causam sintomas de intoxicação por amônia, incluindo tremores, discurso inarticulado, sonolência, vômito, edema cerebral e visão borrada. Em altas concentrações, a amônia pode causar coma e morte. Os dois principais tipos de hiperamonemia são:

1. **Hiperamonemia adquirida.** A doença hepática é uma causa comum de hiperamonemia em adultos. Pode ser causada, por exemplo, por uma hepatite viral ou hepatotoxinas, como o álcool. Cirrose hepática pode resultar na formação de circulação colate-

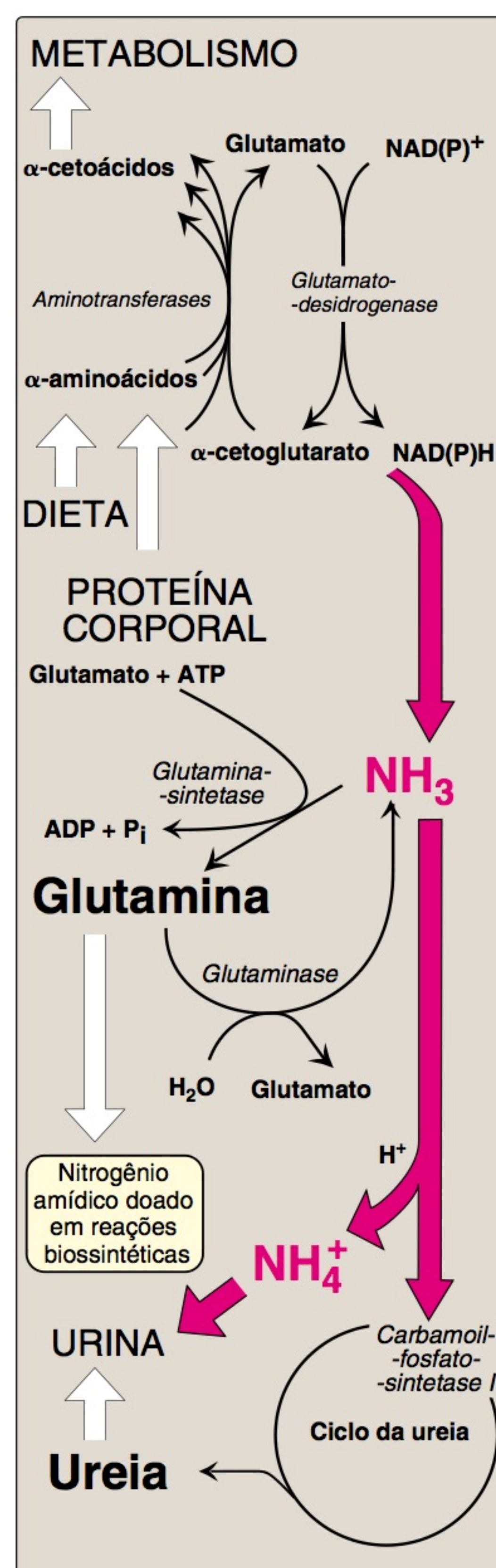


Figura 19.19

Metabolismo da amônia. O conteúdo de ureia na urina é relatado como nitrogênio ureico urinário ou NUU, ao passo que a ureia no sangue é relatada como nitrogênio ureico sanguíneo. As enzimas *glutamato-desidrogenase*, *glutamina-sintetase* e *carbamoil-fosfato sintetase I* fixam amônia (NH_3) em moléculas orgânicas.

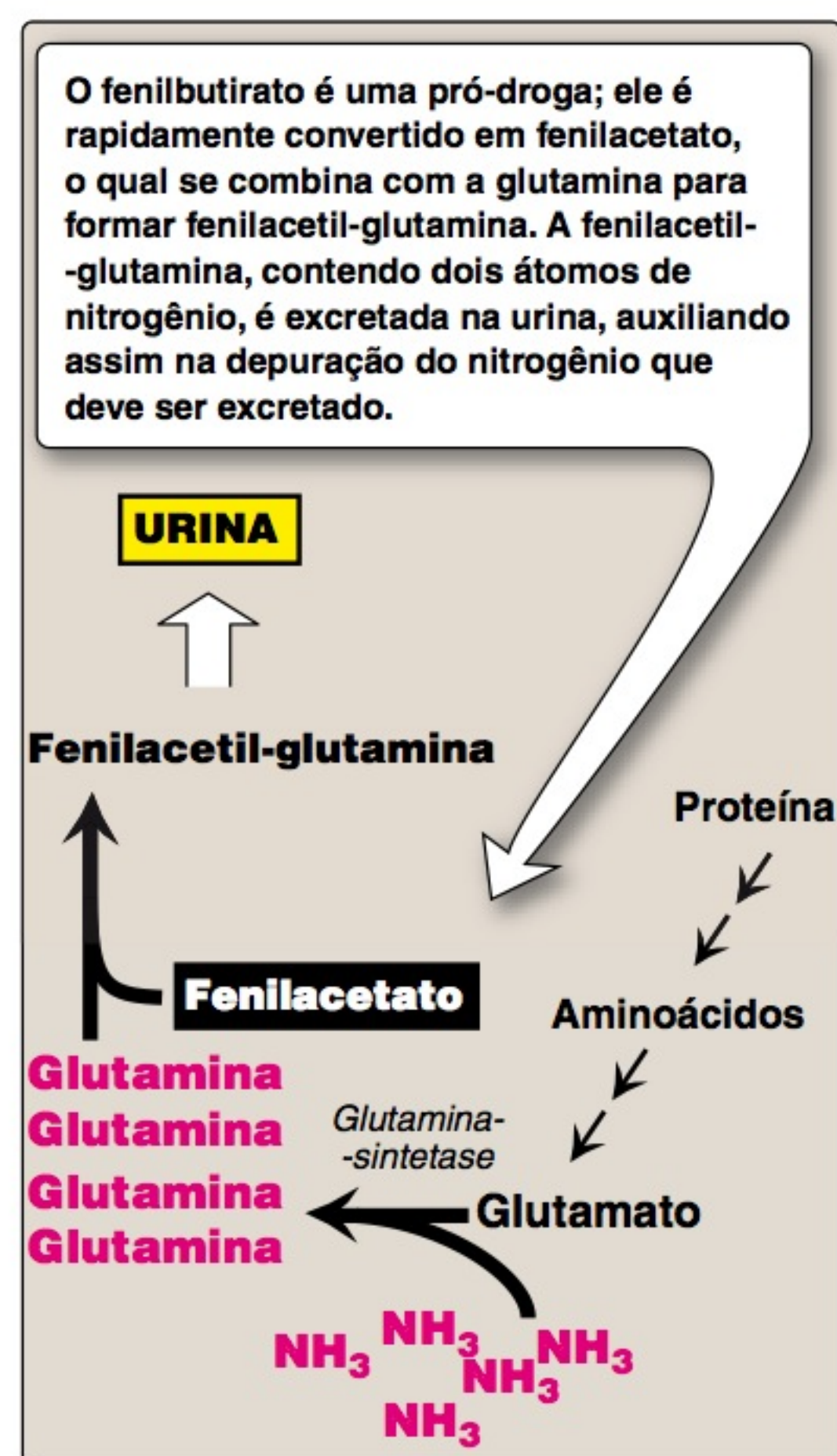


Figura 19.20

Tratamento de pacientes com deficiência em enzimas do ciclo da ureia pela administração de fenilbutirato, para ajudar na excreção de amônia.

ral ao redor do fígado. Em consequência, o sangue da circulação porta é lançado diretamente na circulação sistêmica e não tem acesso ao fígado. A conversão de amônia em ureia é, portanto, gravemente prejudicada, levando a níveis elevados de amônia circulante.

2. **Hiperamonemia hereditária.** Já foram descritas deficiências genéticas para cada uma das cinco enzimas do ciclo da ureia, com uma prevalência geral estimada de 1 a cada 25.000 nascidos vivos. A deficiência da *ornitina-transcarbamoilase*, que é ligada ao X, é a mais comum dessas doenças. Afeta predominantemente indivíduos do sexo masculino, embora portadores do sexo feminino possam vir a apresentar os sintomas clinicamente. Todas as demais doenças do ciclo da ureia seguem um padrão de herança autossômica recessiva. Em todos os casos, a falha em sintetizar ureia leva à hiperamonemia durante as primeiras semanas após o nascimento. (Nota: a hiperamonemia observada com deficiência de *arginase* é menos grave, pois a arginina contém dois nitrogênios a serem eliminados e pode ser excretada na urina.) Historicamente, as deficiências de enzimas do ciclo da ureia apresentam alta morbidade (sintomas neurológicos) e mortalidade. O tratamento inclui a limitação de proteína na dieta, na presença de calorias em quantidade suficiente para prevenir o catabolismo. A administração de compostos que se ligam covalentemente a aminoácidos, produzindo moléculas com nitrogênio que são excretadas na urina, tem aumentado a sobrevivência dos pacientes. Por exemplo, o fenilbutirato administrado oralmente é convertido em fenilacetato. Este se condensa com a glutamina, formando fenilacetil-glutamina, que é excretada (Figura 19.20).

VIII. RESUMO DO CAPÍTULO

O **nitrogênio entra** no organismo por meio de vários compostos presentes nos alimentos; os mais importantes são os aminoácidos contidos nas **proteínas da dieta**. O **nitrogênio deixa** o organismo na forma de **ureia**, **amônia** e outros produtos derivados do metabolismo dos aminoácidos (Figura 19.21). Os aminoácidos livres encontrados no organismo são produzidos pela hidrólise de proteínas da dieta no estômago e no intestino, pela degradação de proteínas teciduais e pela síntese *de novo*. Esse **conjunto de aminoácidos** é consumido na síntese proteica para o organismo ou metabolizado para produzir energia, ou esses aminoácidos podem, ainda, ser utilizados como precursores de outros compostos contendo nitrogênio. Observe que as proteínas de um organismo são simultaneamente degradadas e novamente sintetizadas – processo denominado **renovação das proteínas**. Para muitas proteínas, a **regulação da síntese** determina a concentração da proteína na célula, ao passo que as quantidades de outras proteínas são controladas por **degradação seletiva**. O sistema **ubiquitina/proteassomo**, dependente de ATP, e as **hidrolases ácidas lisossomais**, não dependentes de ATP, são os dois principais sistemas enzimáticos responsáveis pela **degradação de proteínas danificadas ou desnecessárias**. O nitrogênio não pode ser armazenado, e os aminoácidos que excedem as necessidades biossintéticas da célula são imediatamente degradados. A primeira fase do **catabolismo** envolve a transferência dos grupos α -amino por **transaminação dependente de piridoxal-fosfato**, seguindo-se a **desaminação oxidativa do glutamato**, formando **amônia** e os **α -cetoácidos** correspondentes. Parte da **amônia livre** é excretada na **urina**, **parte é utilizada na conversão de glutamato em glutamina**, mas a maior parte é utilizada na síntese de **ureia** – quantitativamente a via mais importante para a eliminação do nitrogênio do organismo. As duas principais causas de **hiperamonemia (com seus efeitos sobre o SNC)** são as doenças hepáticas e as deficiências hereditárias de enzimas do ciclo da ureia (como a ornitina transcarbamoilase).

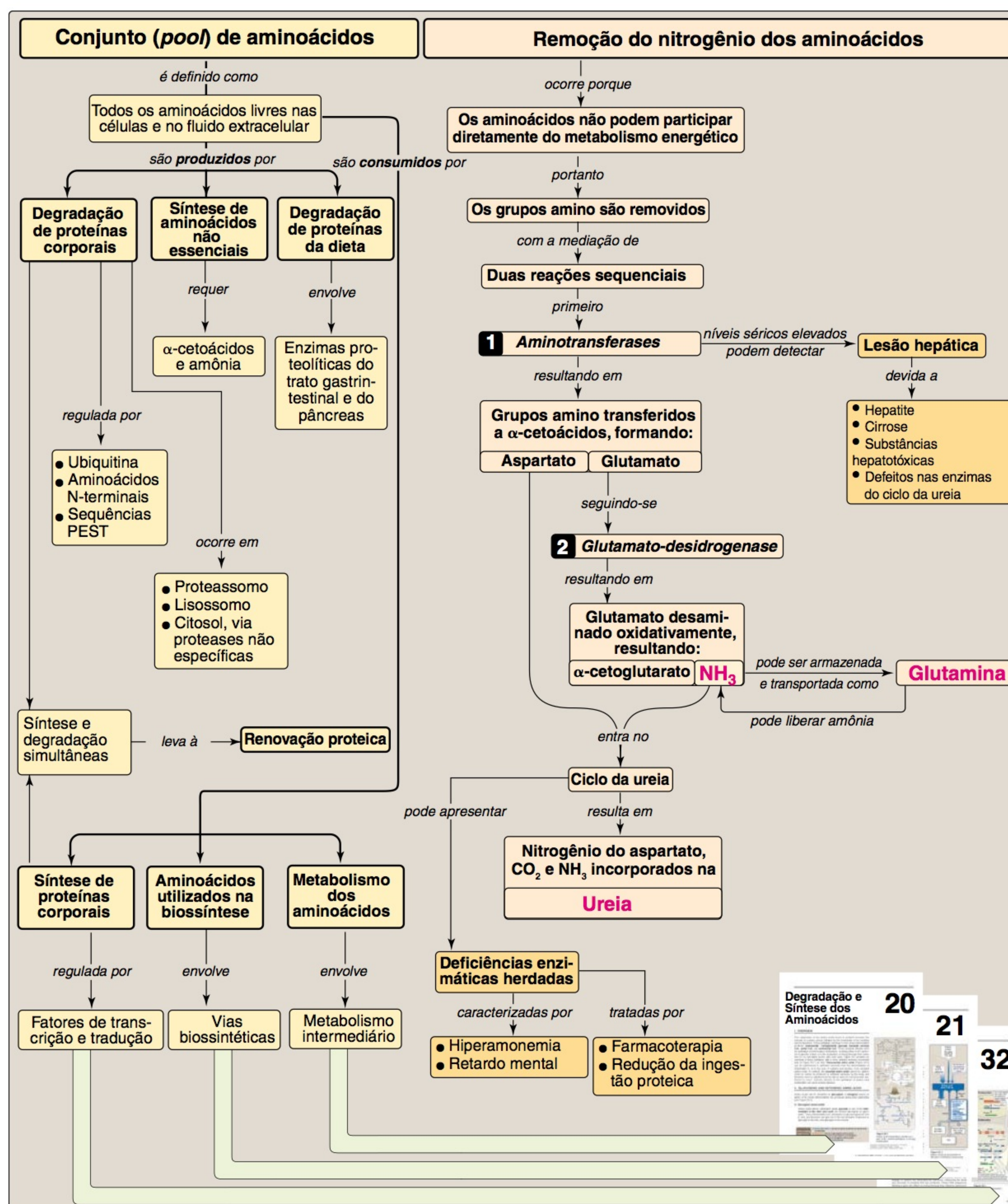


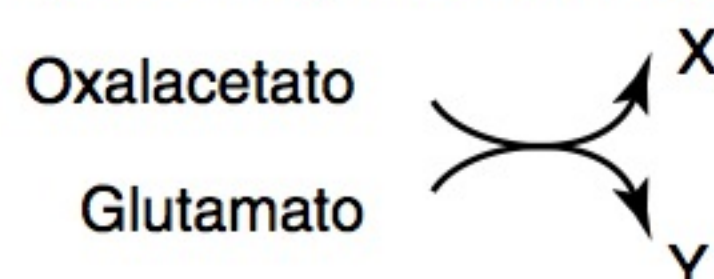
Figura 19.21

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo do nitrogênio.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA melhor resposta.

- 19.1 Na reação de transaminação mostrada abaixo, quais dos compostos seguintes são os produtos X e Y?



- A. Alanina, α -cetoglutarato.
- B. Glutamato, α -cetoglutarato.
- C. Aspartato, α -cetoglutarato.
- D. Piruvato, aspartato.
- E. Piruvato, alanina.

- 19.2 Qual das seguintes afirmativas a respeito do ciclo da ureia está correta?

- A. Os dois átomos de nitrogênio incorporados na ureia entram no ciclo como amônia e alanina.
- B. A ureia é produzida diretamente pela hidrólise da ornitina.
- C. O ATP é necessário para a reação em que o argininossuccinato é clivado para formar arginina.
- D. A ureia urinária aumenta em uma dieta rica em proteínas.
- E. O ciclo da ureia ocorre exclusivamente no citosol.

Para as questões 19.3 e 19.4:

Um recém-nascido do sexo feminino inicialmente esteve bem até aproximadamente 24 horas de idade, quando tornou-se letárgico. Um exame para sepse mostrou-se negativo. Com 56 horas, o bebê começou a mostrar atividade convulsiva focal. Os níveis plasmáticos de amônia estavam em $1.100 \mu\text{mol/L}$ (normal 5 a $35 \mu\text{mol/L}$). A determinação dos níveis de aminoácidos no plasma mostrou aumento marcante de argininossuccinato.

- 19.3 Qual das seguintes atividades enzimáticas mais provavelmente está deficiente neste paciente?

- A. Arginase.
- B. Argininossuccinato-liase.
- C. Argininossuccinato-sintase.
- D. Carbamoil-fosfato-sintetase I.
- E. Ornitina transcarbamoilase.

- 19.4 Qual dos seguintes compostos também estaria elevado no sangue dessa paciente?

- A. Asparagina.
- B. Glutamina.
- C. Lisina.
- D. Ureia.
- E. Ácido úrico.

Resposta correta = C. As reações de transaminação sempre apresentam um aminoácido e um α -cetoácido como substratos. Os produtos da reação também são um aminoácido (correspondendo ao α -cetoácido que serviu como substrato) e um α -cetoácido (correspondendo ao aminoácido que serviu como substrato). Três pares de aminoácidos/ α -cetoácidos comumente encontrados no metabolismo são:

Alanina/piruvato

Aspartato/oxalacetato

Glutamato/ α -cetoglutarato

Na presente questão, o glutamato é desaminado para formar α -cetoglutarato, e o oxalacetato é aminado para formar aspartato.

Resposta correta = D. O nitrogênio amínico da proteína da dieta é excretado como ureia. Os dois átomos de nitrogênio entram no ciclo da ureia como amônia e aspartato. A ureia é produzida pela hidrólise da arginina. A clivagem do argininossuccinato não requer ATP. O ciclo da ureia ocorre parcialmente na mitocôndria.

Resposta correta = B. Deficiências genéticas em cada uma das cinco enzimas do ciclo da ureia, assim como deficiências na síntese de N-acetil-glutamato, já foram descritas. O acúmulo de argininossuccinato no plasma dessa paciente significa que as enzimas necessárias para sua síntese são funcionais, mas a enzima necessária para sua clivagem em arginina e fumarato (argininossuccinato-liase ou argininossuccinase) não é funcional.

Resposta correta = B. Com a exceção da arginase, as deficiências das enzimas do ciclo da ureia resultam em falha na síntese de ureia e levam à hiperamonemia durante as primeiras semanas após o nascimento. A glutamina também estará elevada, pois atua como forma não tóxica de armazenamento e transporte para a amônia. Assim, níveis elevados de glutamina sempre acompanham a hiperamonemia. A asparagina não apresenta esse papel de armazenamento para a amônia. A ureia estaria diminuída, devido ao prejuízo na atividade do ciclo da ureia. A lisina e o ácido úrico não estariam elevados. O tratamento para essa paciente inclui a limitação de proteínas na dieta e a administração de compostos que se ligam covalentemente a aminoácidos, produzindo moléculas nitrogenadas, que são excretadas na urina. Por exemplo, o fenilbutirato, administrado oralmente, é convertido em fenilacetato. Esse composto se condensa com a glutamina, formando fenilacetil-glutamina, que é excretada.

Degradação e Síntese dos Aminoácidos

I. VISÃO GERAL

O catabolismo dos aminoácidos envolve a remoção dos grupos α -amino e a posterior quebra dos esqueletos carbonados resultantes. Essas vias convergem para formar sete produtos intermediários: oxalacetato, α -cetoglutarato, piruvato, fumarato, succinil-coenzima A (CoA), acetil-CoA e acetoacetato. Esses produtos entram diretamente nas vias do metabolismo intermediário, resultando na síntese de glicose ou de lipídeos, ou ainda na produção de energia por sua oxidação a CO_2 no ciclo do ácido cítrico. A Figura 20.1 fornece uma visão geral dessas vias; um resumo mais minucioso é apresentado depois, na Figura 20.14 (veja a p. 269). Os aminoácidos não essenciais (Figura 20.2) podem ser sintetizados em quantidades suficientes a partir de intermediários do metabolismo ou, como no caso da cisteína e da tirosina, a partir de aminoácidos essenciais. Em contraste, os aminoácidos essenciais não podem ser sintetizados (ou produzidos em quantidades suficientes) pelo organismo e, portanto, devem ser obtidos a partir da dieta, a fim de que ocorra uma síntese proteica normal. Defeitos genéticos nas vias do metabolismo de aminoácidos podem causar doenças graves.

II. AMINOÁCIDOS GLICOGÊNICOS E CETOGÊNICOS

Os aminoácidos podem ser classificados como glicogênicos, cetogênicos ou glicocetogênicos, conforme os sete possíveis intermediários produzidos durante seu catabolismo (veja a Figura 20.2).

A. Aminoácidos glicogênicos

Os aminoácidos cujo catabolismo produz piruvato ou algum intermediário do ciclo do ácido cítrico são denominados glicogênicos. Esses intermediários são substratos para a gliconeogênese (veja a p. 117) e, portanto, podem originar a formação efetiva de glicose no fígado e no rim.

Código de cores utilizado neste capítulo

- **TEXTO COM LETRAS MAIÚSCULAS EM AZUL ESCURO** = nomes dos sete produtos do metabolismo dos aminoácidos
- **Texto em vermelho** = nomes dos aminoácidos glicogênicos
- **Texto em marrom** = nomes dos aminoácidos glicogênicos e cetogênicos
- **Texto em verde** = nomes dos aminoácidos cetogênicos
- **Texto em azul** = compostos de um carbono

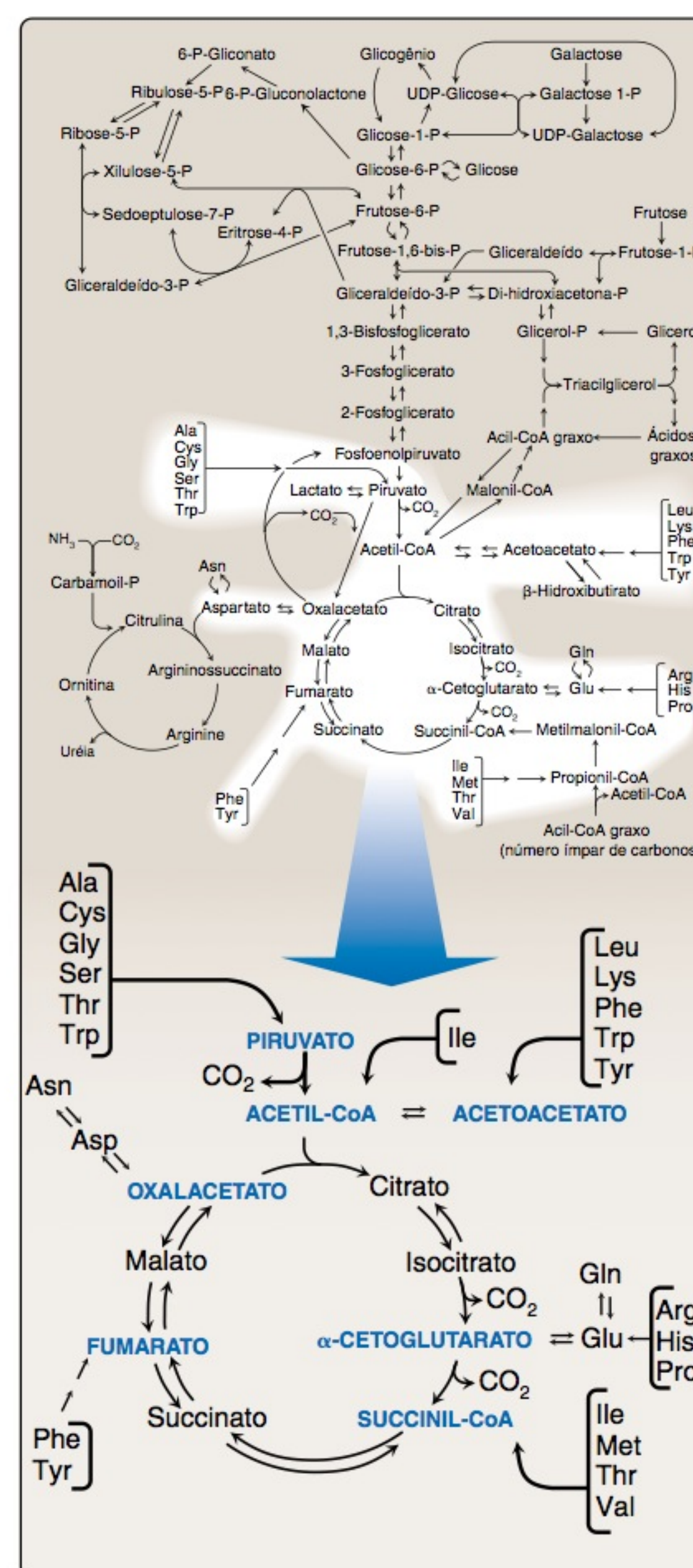


Figura 20.1

Metabolismo dos aminoácidos, mostrado como parte das vias centrais do metabolismo energético. (Veja na figura 8.2, p. 92, uma visão mais detalhada desses processos.)

	Glicogênicos	Glicogênicos e Cetogênicos	Cetogênicos
Não essenciais	Alanina Arginina Asparagina Aspartato Cisteína Glutamato Glutamina Glicina Prolina Serina	Tirosina	
Essenciais	Histidina Metionina Treonina Valina	Isoleucina Fenilalanina Tryptofano	Leucina Lisina

Figura 20.2

Classificação dos aminoácidos. (Nota: alguns aminoácidos podem tornar-se essenciais em certas condições. Por exemplo, tem sido demonstrado que suplementação com glutamina e arginina melhora o desfecho em pacientes com trauma, infecções pós-operatórias e imunossupressão.)

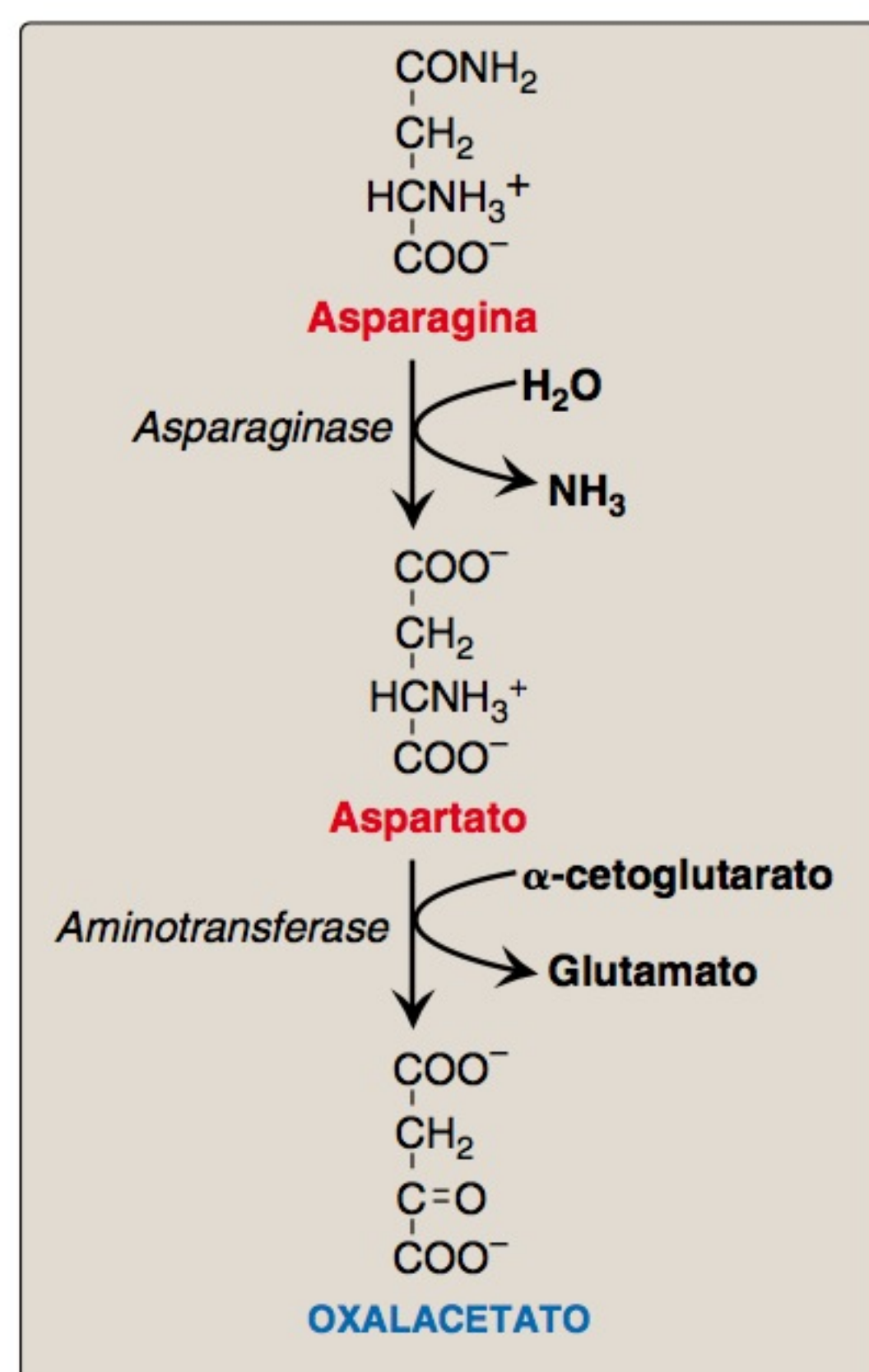


Figura 20.3

Metabolismo da asparagina e do aspartato. (Nota: lembre que os carbonos do aspartato podem produzir fumarato no ciclo da ureia [veja na p. 254].)

B. Aminoácidos cetogênicos

Os aminoácidos cujo catabolismo produz acetoacetato ou um de seus precursores (acetil-CoA ou acetoacetyl-CoA) são denominados cetogênicos (veja a Figura 20.2). O acetoacetato é um dos “corpos cetônicos”, que incluem também o 3-hidroxi-butarato e a acetona (veja a p. 195). Leucina e lisina são os únicos aminoácidos exclusivamente cetogênicos encontrados nas proteínas. Seus esqueletos carbonados não servem de substrato para a gliconeogênese e, portanto, não podem originar a produção efetiva de glicose.

III. CATABOLISMO DOS ESQUELETOS CARBONADOS DOS AMINOÁCIDOS

As vias pelas quais os aminoácidos são catabolizados dividem-se, por conveniência, de acordo com qual (ou quais) dos sete intermediários é produzido (ou são produzidos) a partir de um determinado aminoácido.

A. Aminoácidos que produzem oxalacetato

A asparagina é hidrolisada pela *asparaginase*, produzindo amônia e aspartato (Figura 20.3). O aspartato perde seu grupo amina por transaminação, formando oxalacetato (veja a Figura 20.3). (Nota: algumas células leucêmicas de divisão rápida são incapazes de sintetizar asparagina em quantidade suficiente para seu crescimento. Isso torna a asparagina um aminoácido essencial para essas células, que, portanto, demandam asparagina do sangue. A *asparaginase*, que hidrolisa a asparagina para aspartato, pode ser administrada sistemicamente para tratar pacientes com leucemia.¹ A *asparaginase* diminui o nível de asparagina no plasma e, assim, priva as células cancerosas de um nutriente essencial.)

B. Aminoácidos que produzem α -cetoglutarato, via glutamato

- Glutamina.** A glutamina é convertida em glutamato e amônia pela enzima *glutaminase* (veja a p. 256). O glutamato é convertido em α -cetoglutarato, o que pode ocorrer por transaminação ou por desaminação oxidativa (pela *glutamato-desidrogenase*) (veja a p. 252).
- Prolina.** Este aminoácido é oxidado, produzindo glutamato. O glutamato é transaminado ou desaminado oxidativamente, formando α -cetoglutarato.
- Arginina.** A arginina é clivada pela *arginase*, produzindo ornitina. (Nota: essa reação ocorre principalmente no fígado, como parte do ciclo da ureia [veja a p. 255].) A ornitina é posteriormente convertida em α -cetoglutarato, sendo o semialdeído do glutamato um intermediário nessa reação.
- Histidina.** Este aminoácido é desaminado oxidativamente pela *histidase*, produzindo ácido urocânico, o qual subsequentemente forma N-formiminoglutamato (FIGlu, Figura 20.4). O FIGlu doa seu grupo formimino para o tetra-hidrofolato (THF), produzindo glutamato, degradado conforme descrito anteriormente. (Nota: indivíduos com deficiência de ácido fólico excretam quantidades aumentadas de FIGlu na urina,



¹Veja o Capítulo 39 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca da utilização da asparaginase como medicamento antileucêmico.

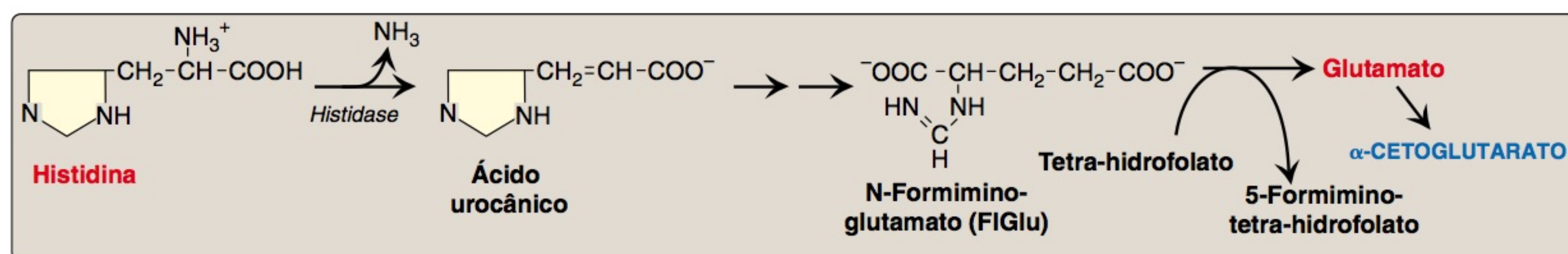


Figura 20.4

Degradação da histidina.

especialmente após a ingestão de grande quantidade de histidina. O teste de excreção de FIGlu tem sido utilizado para diagnosticar deficiência de ácido fólico.) (Veja na p. 267 uma discussão acerca do ácido fólico, do THF e do metabolismo de compostos de um carbono.)

C. Aminoácidos que produzem piruvato

1. **Alanina.** Este aminoácido perde seu grupo amino por transaminação reversivelmente, formando piruvato (Figura 20.5). (Nota: a alanina é o principal aminoácido gliconeogênico.)
2. **Serina.** A serina pode ser convertida em glicina e N⁵,N¹⁰-metileno-tetra-hidrofolato (Figura 20.6A). A serina pode também ser convertida em piruvato pela *serina-desidratase* (Figura 20.6B).
3. **Glicina.** Este aminoácido pode tanto ser convertido em serina, pela adição reversível de um grupo metileno doado pelo N⁵,N¹⁰-metileno-tetra-hidrofolato (veja a Figura 20.6A), quanto ser oxidado a CO₂ e NH₃. (Nota: a glicina pode ser convertida em glioxilato. O glioxilato pode ser oxidado a oxalato, ou transaminado, produzindo glicina. Deficiência da transaminase causa uma grande produção de oxalato e dano renal [principalmente oxalúria do tipo 1].)
4. **Cistina.** A cistina é reduzida, produzindo cisteína, utilizando NADH + H⁺ como agente redutor. A **cisteína** sofre dessulfuração, produzindo piruvato. (Nota: o sulfato liberado pode ser utilizado para sintetizar 3'-fosfoadenosina-5'-fosfossulfato [PAPS], um composto ativado capaz de doar sulfato para aceptores, como glicosaminoglicanos [veja a p. 162].)
5. **Treonina.** Este aminoácido é convertido em piruvato ou em α-cetobutirato, que forma succinil-CoA.

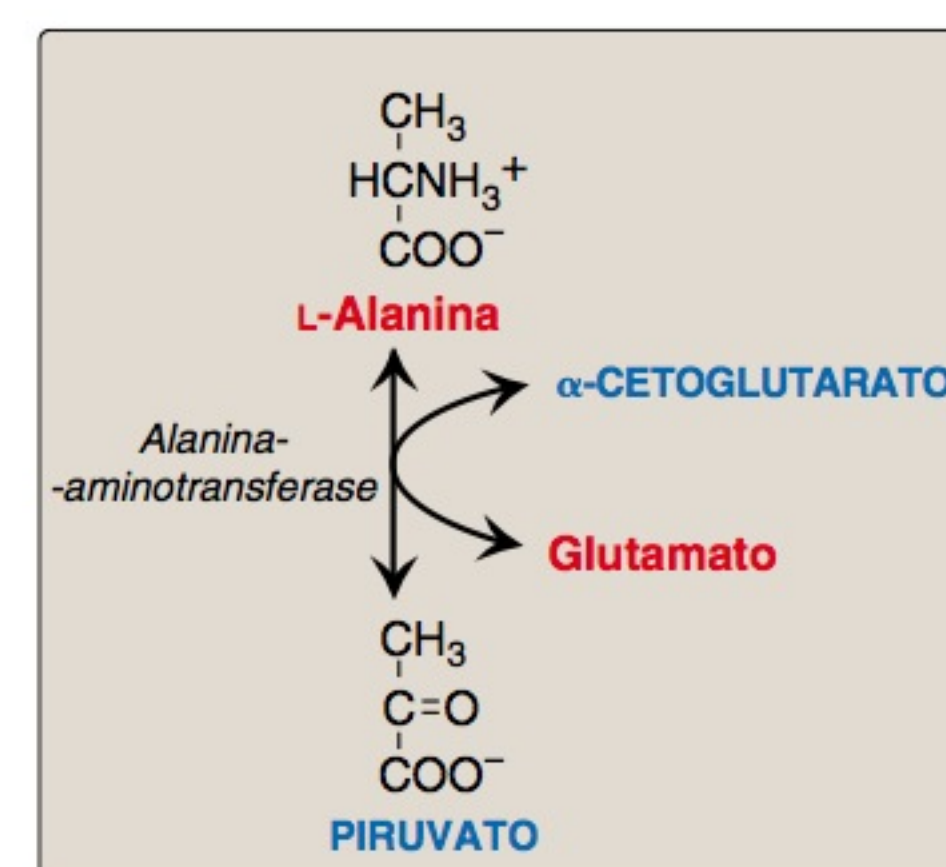


Figura 20.5

Transaminação da alanina para formar o piruvato.

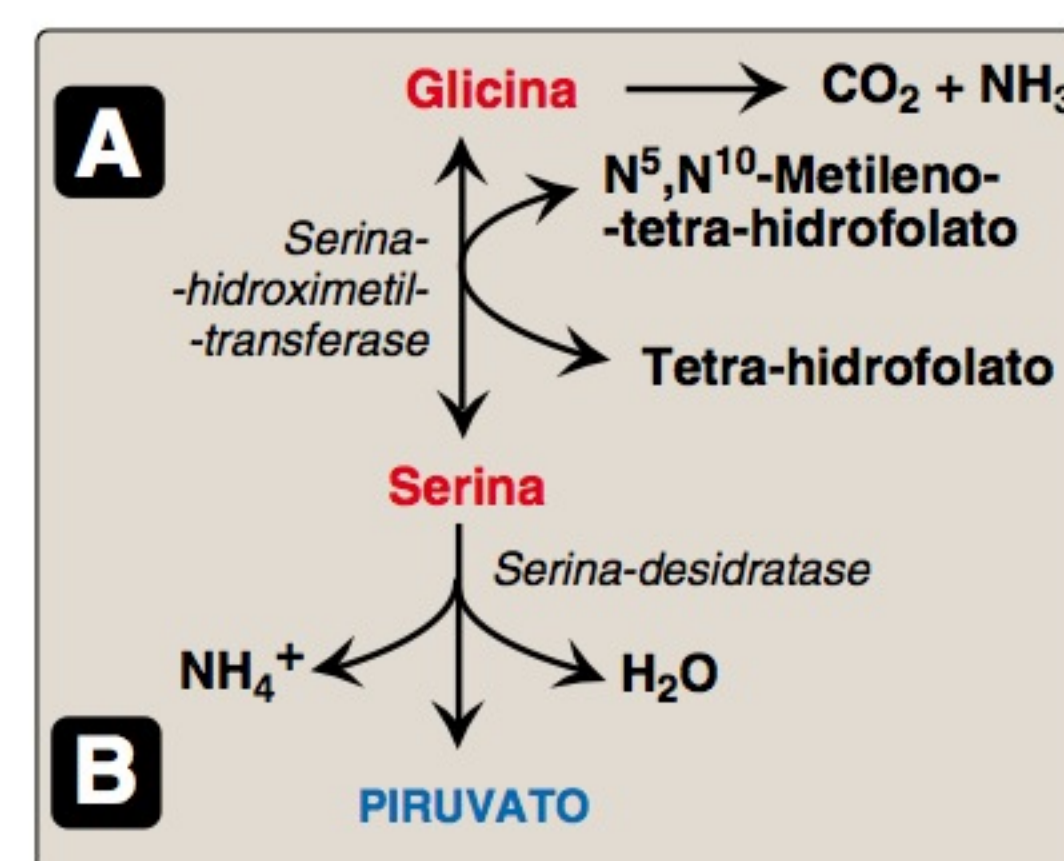


Figura 20.6

A. Interconversão de serina e glicina e oxidação da glicina. B. Desidratação da serina, formando piruvato.

D. Aminoácidos que produzem fumarato

1. **Fenilalanina e tirosina.** A hidroxilação da fenilalanina leva à formação de tirosina (Figura 20.7). Essa reação, catalisada pela *fenilalanina-hidroxilase*, uma enzima que requer tetra-hidrobiopterina, é a primeira reação no catabolismo da fenilalanina. Assim, o metabolismo da fenilalanina e o da tirosina confluem, levando por fim à formação de fumarato e acetoacetato. Portanto, a fenilalanina e a tirosina são aminoácidos tanto glicogênicos quanto cetogênicos.
2. **Deficiências herdadas.** Deficiências herdadas nas enzimas do metabolismo da fenilalanina e da tirosina levam às doenças fenilcetonúria (veja a p. 270) e alcaptonúria (p. 274) e à condição denominada albinismo (p. 273).

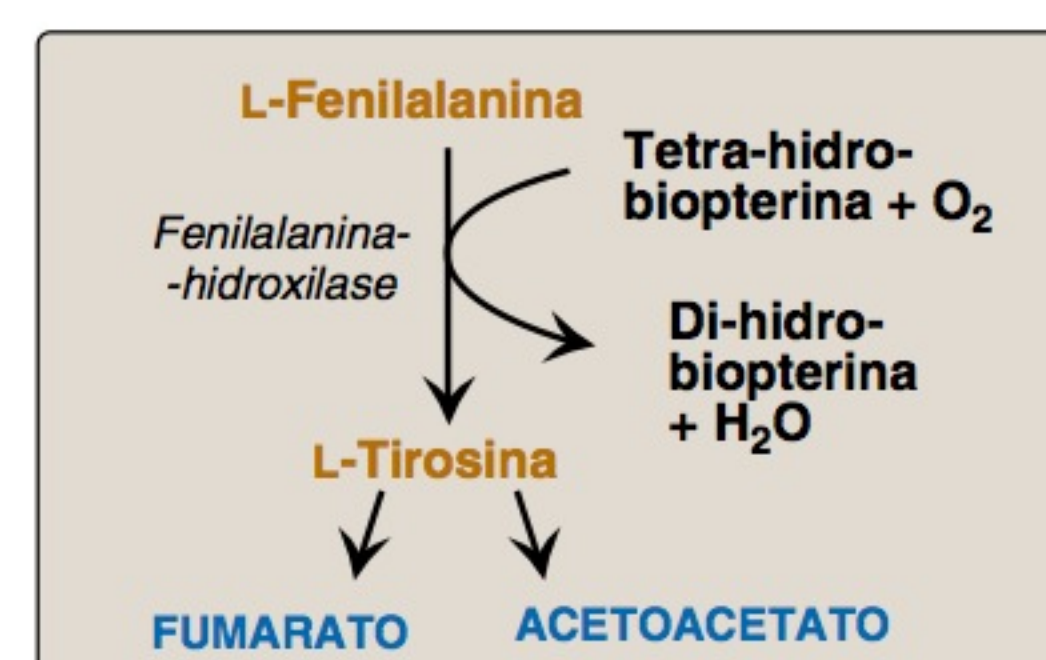
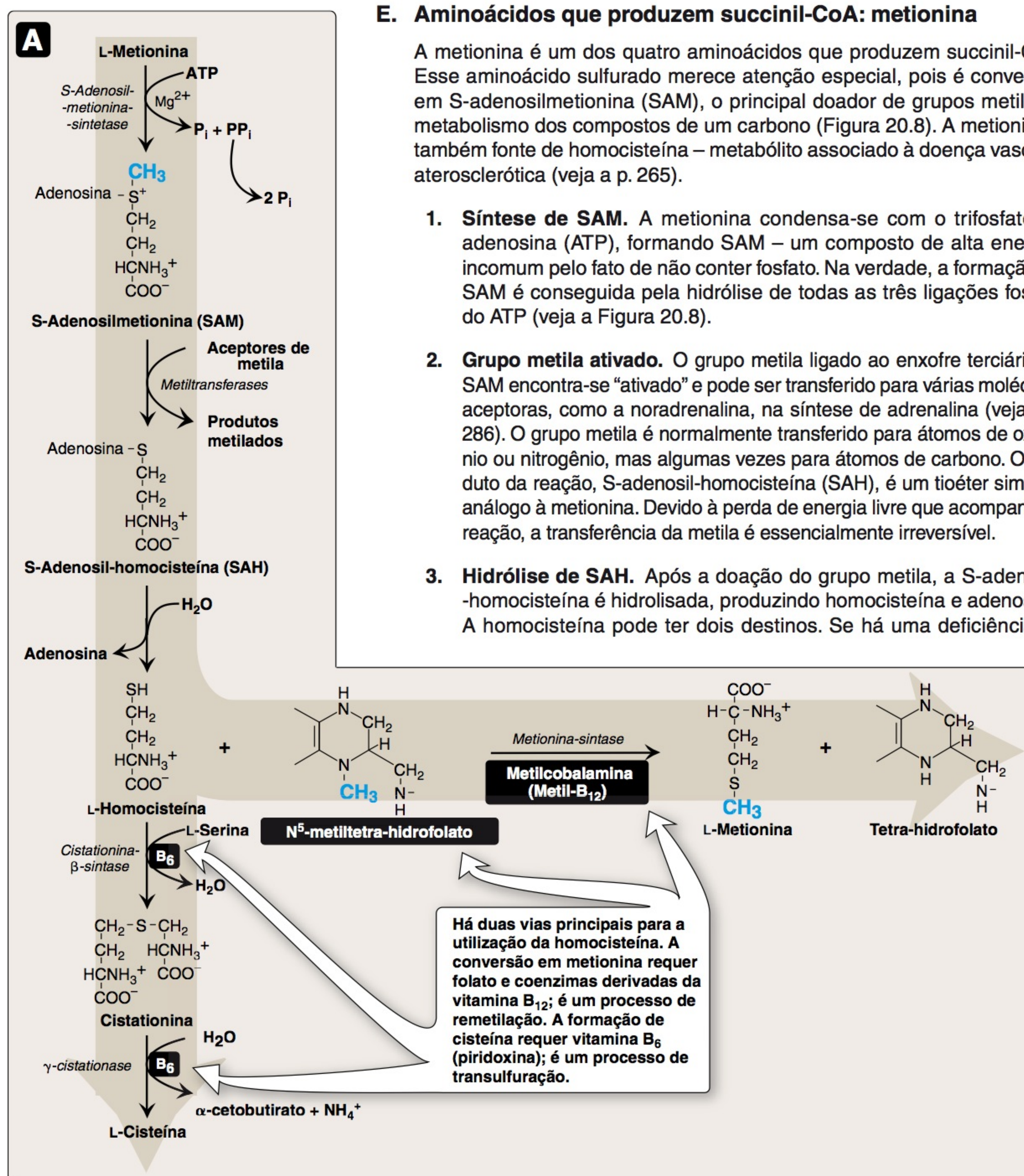


Figura 20.7

Degradação da fenilalanina.



E. Aminoácidos que produzem succinil-CoA: metionina

A metionina é um dos quatro aminoácidos que produzem succinil-CoA. Esse aminoácido sulfurado merece atenção especial, pois é convertido em S-adenosilmetionina (SAM), o principal doador de grupos metila no metabolismo dos compostos de um carbono (Figura 20.8). A metionina é também fonte de homocisteína – metabólito associado à doença vascular aterosclerótica (veja a p. 265).

- Síntese de SAM.** A metionina condensa-se com o trifosfato de adenosina (ATP), formando SAM – um composto de alta energia, incomum pelo fato de não conter fosfato. Na verdade, a formação de SAM é conseguida pela hidrólise de todas as três ligações fosfato do ATP (veja a Figura 20.8).
- Grupo metila ativado.** O grupo metila ligado ao enxofre terciário da SAM encontra-se “ativado” e pode ser transferido para várias moléculas aceptoras, como a noradrenalina, na síntese de adrenalina (veja a p. 286). O grupo metila é normalmente transferido para átomos de oxigênio ou nitrogênio, mas algumas vezes para átomos de carbono. O produto da reação, S-adenosil-homocisteína (SAH), é um tioéter simples, análogo à metionina. Devido à perda de energia livre que acompanha a reação, a transferência da metila é essencialmente irreversível.
- Hidrólise de SAH.** Após a doação do grupo metila, a S-adenosil-homocisteína é hidrolisada, produzindo homocisteína e adenosina. A homocisteína pode ter dois destinos. Se há uma deficiência de

Figura 20.8

Degradação e ressíntese da metionina. (Nota: a ressíntese da metionina a partir da homocisteína é a única reação em que o THF carrega e doa um grupo metila. Em todas as outras reações, o doador de grupos metila é a SAM.)*

* N. de T. A estrutura do tetra-hidrofolato está representada apenas parcialmente (veja a Figura 20.11 para a estrutura desse composto).

metionina, a homocisteína pode ser novamente metilada, resultando em metionina (veja a Figura 20.8). Se os estoques de metionina são adequados, a homocisteína pode entrar na via de transulfuração e ser convertida em cisteína.

a. Síntese de metionina. A homocisteína aceita o grupo metila do N⁵-metiltetra-hidrofolato (N⁵-metil-THF), em reação que exige metilcobalamina, coenzima derivada da vitamina B₁₂ (veja a p. 375). O grupo metila é transferido a partir do derivado da B₁₂ para a homocisteína, e a cobalamina é novamente carregada a partir do N⁵-metil-THF.

b. Síntese de cisteína. A homocisteína combina-se com a serina, formando cistationina, que, hidrolisada, produz α-cetobutirato e cisteína (veja a Figura 20.8). Essa sequência de reações necessita de vitamina B₆ e apresenta o efeito líquido de converter serina em cisteína e homocisteína em α-cetobutirato, que é descarboxilado oxidativamente, formando propionil-CoA. Este é convertido em succinil-CoA (veja a p. 194). A homocisteína é sintetizada a partir do aminoácido essencial metionina. Por isso, a cisteína não é um aminoácido essencial, desde que estejam disponíveis quantidades suficientes de metionina.

- 4. Relação da homocisteína com doenças vasculares.** Níveis elevados de homocisteína no plasma promovem dano oxidativo, inflamação e disfunção endotelial, além de representar um fator de risco independente para doença vascular oclusiva (Figura 20.9). Aumentos moderados são observados em cerca de 7% da população. Estudos epidemiológicos têm mostrado que os níveis plasmáticos de homocisteína estão inversamente relacionados aos níveis plasmáticos de folato, B₁₂ e B₆, as três vitaminas envolvidas na conversão de homocisteína em metionina ou cisteína. Suplementando-se a dieta com essas vitaminas, consegue-se uma redução dos níveis circulantes de homocisteína. Em pacientes com doença cardiovascular já presente, no entanto, a terapia vitamínica não diminui a ocorrência de eventos cardiovasculares ou de morte. Isso levanta a seguinte questão: a homocisteína causa dano vascular ou é apenas um marcador deste? (Nota: elevados níveis de homocisteína plasmática como resultado de deficiências raras de *cistationina-β-sintase* são observados em pacientes com homocistinúria clássica. Esses indivíduos experimentam doença vascular prematura e cerca de 25% morrem de complicações trombóticas antes dos 30 anos de idade.)



Níveis elevados de homocisteína ou redução nos níveis de ácido fólico em gestantes estão associados ao aumento na incidência de defeitos do tubo neural (fechamento inadequado, como na espinha bífida) no feto. Suplementação com folato no período da concepção reduz o risco de tais defeitos.

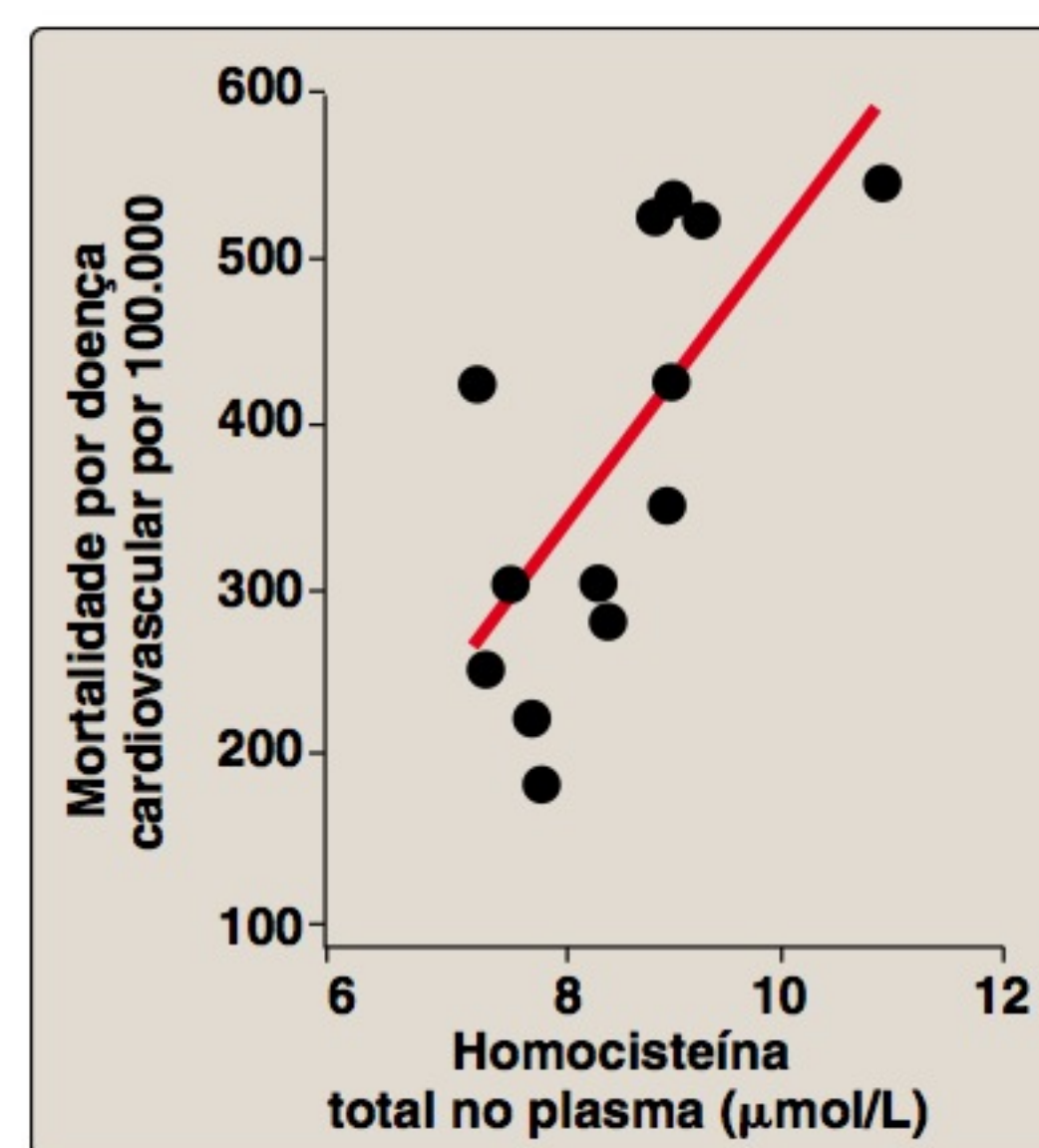


Figura 20.9

Associação entre mortalidade por doença cardiovascular e homocisteína total no plasma.

F. Outros aminoácidos que produzem succinil-CoA

A degradação de valina, isoleucina e treonina também resulta na produção de succinil-CoA – intermediário do ciclo do ácido cítrico e substrato para a gliconeogênese.

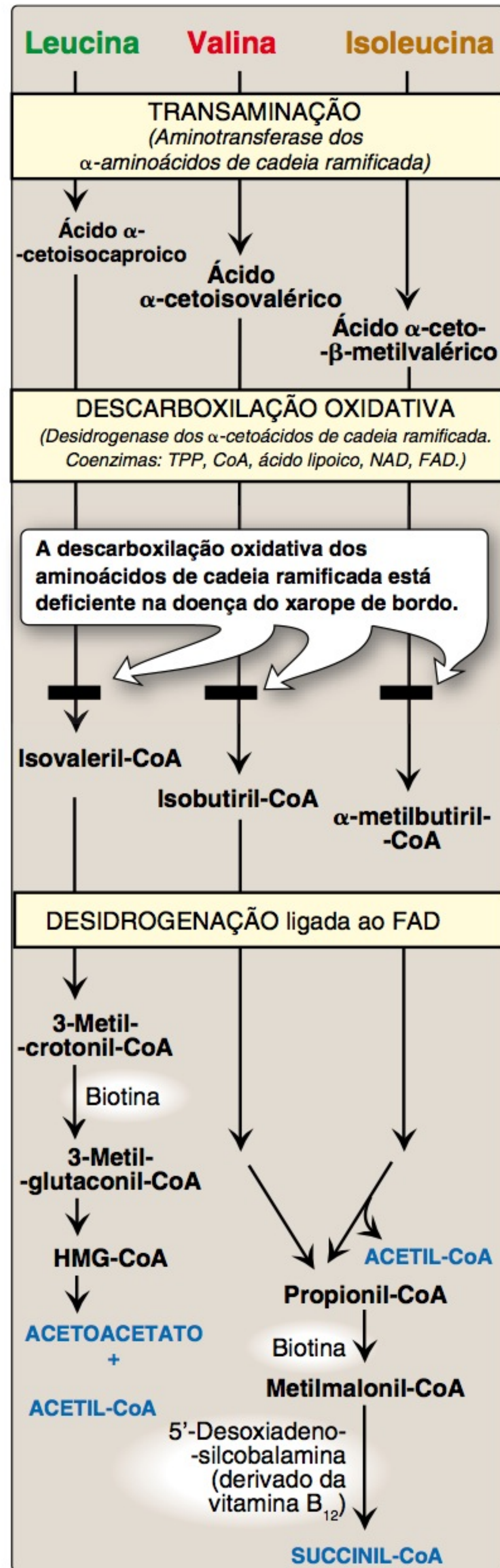


Figura 20.10

Degradação da leucina, da valina e da isoleucina. TPP = pirofosfato de tiamina. (Nota: a 3-Metilcrotonil-CoA-carboxilase é uma das quatro carboxilases que utilizam biotina como coenzima que encontramos até este capítulo. As outras três são a piruvato-carboxilase, a acetil-CoA-carboxilase e a propionil-CoA-carboxilase.)

1. **Valina e isoleucina.** Estes aminoácidos de cadeia lateral ramificada produzem propionil-CoA, que é em seguida convertido em succinil-CoA por reações que necessitam de biotina e vitamina B₁₂ (Figura 20.10).
2. **Treonina.** A treonina é desidratada, produzindo α-cetobutirato, que é convertido em propionil-CoA, precursor de succinil-CoA. A treonina também pode ser convertida em piruvato. (Nota: o propionil-CoA é, então, gerado pelo catabolismo de certos aminoácidos e de ácidos graxos com número ímpar de carbonos [veja a p. 193].)

G. Aminoácidos que produzem acetil-CoA ou acetoacetil-CoA

Leucina, isoleucina, lisina e triptofano produzem acetil-CoA ou acetoacetil-CoA diretamente, sem a formação intermediária de piruvato (pela reação da *piruvato-desidrogenase*, veja a p. 109). Como foi mencionado anteriormente, a fenilalanina e a tirosina também produzem acetoacetato durante seu catabolismo (veja a Figura 20.7). Portanto, há um total de seis aminoácidos cetogênicos.

1. **Leucina.** Este aminoácido é exclusivamente cetogênico em seu catabolismo, formando acetil-CoA e acetoacetato (veja a Figura 20.10). Os passos iniciais no catabolismo da leucina são semelhantes àqueles dos outros aminoácidos de cadeia ramificada, a isoleucina e a valina (veja a seguir).
2. **Isoleucina.** A isoleucina é tanto cetogênica quanto glicogênica, pois seu metabolismo produz acetil-CoA e propionil-CoA. Os três primeiros passos no metabolismo da isoleucina são praticamente idênticos aos passos iniciais da degradação dos demais aminoácidos de cadeia ramificada, valina e leucina (veja a Figura 20.10).
3. **Lisina.** A lisina, aminoácido exclusivamente cetogênico, é incomum porque nenhum de seus grupos amino sofre transaminação como primeiro passo de seu catabolismo. Por fim, a lisina é convertida em acetoacetil-CoA.
4. **Triptofano.** Este aminoácido é tanto glicogênico quanto cetogênico, pois seu metabolismo produz alanina e acetoacetil-CoA.

H. Catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada

Os aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina e valina) são aminoácidos essenciais. Em contraste com outros aminoácidos, são metabolizados principalmente por tecidos periféricos (em especial músculo), em vez de o serem pelo fígado. Uma vez que esses três aminoácidos possuem rota catabólica semelhante, é conveniente descrevê-los como um grupo (veja a Figura 20.10).

1. **Transaminação.** A remoção dos grupos amino de todos os três aminoácidos é catalisada por uma única enzima que requer vitamina B₆, a *aminotransferase dos aminoácidos de cadeia ramificada*.
2. **Descarboxilação oxidativa.** A remoção do grupo carboxila dos α-cetoácidos derivados da leucina, da valina e da isoleucina é catalisada também por um único complexo multienzimático, o complexo da *desidrogenase dos α-cetoácidos de cadeia ramificada*. Esse complexo utiliza pirofosfato de tiamina, ácido lipoico, FAD, NAD⁺ e coenzima A como coenzimas. (Nota: essa reação é semelhante à conversão de piruvato em acetil-CoA pela *piruvato-desidrogenase* [veja a p. 110] e à oxidação do α-cetoglutarato em succinil-CoA pela *α-cetoglutarato-desidrogenase* [veja a p. 112].) Uma deficiência hereditária da *desidrogenase*

nase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada resulta no acúmulo dos substratos α -cetoácidos de cadeia ramificada na urina. Seu odor adocicado originou o nome “doença do xarope de bordo” (veja a p. 272).

3. **Desidrogenação.** A oxidação dos produtos formados na reação anterior gera derivados acil-CoA α - β -insaturados. Essa reação é análoga à desidrogenação dependente de FAD descrita no esquema da β -oxidação dos ácidos graxos (veja a p. 192). (Nota: a deficiência da *desidrogenase* específica para isovaleril-CoA causa problemas neurológicos e está associada ao odor de “pés suados” nos fluidos orgânicos.)
4. **Produtos finais.** Ao final do catabolismo da isoleucina são produzidos acetil-CoA e succinil-CoA, de modo que esse aminoácido é tanto cetogênico quanto glicogênico. A valina produz succinil-CoA: é um aminoácido glicogênico. A leucina é cetogênica, sendo metabolizada a acetoacetato e acetil-CoA. (Nota: o catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada também produz glutamina e alanina, que são colocados pelo músculo na circulação sanguínea.)

IV. PAPEL DO ÁCIDO FÓLICO NO METABOLISMO DOS AMINOÁCIDOS

Certas vias biossintéticas necessitam da adição de grupos de um carbono. Essas “unidades de um carbono” podem existir em vários estados de oxidação, incluindo formila, metenila, metileno e metila. Essas unidades de um carbono podem ser transferidas a partir de compostos carregadores, como o ácido tetra-hidrofólico (THF) e a S-adenosilmetionina (SAM), para estruturas específicas em estado de síntese ou modificação. O “conjunto de grupos de um carbono” refere-se a unidades de um carbono ligadas a esses transportadores. (Nota: O CO_2 – a forma desidratada do ácido carbônico – é transportado pela vitamina biotina, que é um grupo prostético na maior parte das reações de carboxilação, mas não é considerado um membro do conjunto de grupos de um carbono. Defeitos na capacidade de adicionar ou remover biotina de *carboxilases* resultam em múltiplas deficiências de *carboxilases*. O tratamento é a suplementação com biotina.)

A. Ácido fólico: carregador de unidades de um carbono

A forma ativa do ácido fólico, o ácido tetra-hidrofólico (THF), é produzida a partir do folato pela *di-hidrofolato-redutase*, em uma reação de dois passos que demanda dois NADPH. O grupo de um carbono carregado pelo THF liga-se ao nitrogênio N^5 ou N^{10} , ou a ambos. O THF permite que os compostos de um carbono sejam reconhecidos e manipulados por enzimas biossintéticas. A Figura 20.11 mostra as estruturas de vários membros da família THF e suas interconversões e indica as fontes das unidades de um carbono e as reações sintéticas em que cada componente participa. (Nota: a deficiência de folato apresenta-se como anemia megaloblástica, que é causada pela disponibilidade reduzida de purinas e TMP necessários para a síntese de DNA [veja a p. 303].)

V. BIOSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS NÃO ESSENCIAIS

Os aminoácidos não essenciais são sintetizados a partir de intermediários do metabolismo ou, como no caso da tirosina e da cisteína, a partir dos aminoácidos essenciais fenilalanina e metionina, respectivamente. As reações de síntese para os aminoácidos não essenciais são descritas a seguir e resumi-das na Figura 20.14. (Nota: alguns aminoácidos encontrados nas proteínas, como a hidroxiprolina e a hidroxilisina [veja a p. 45] são modificados após sua incorporação nas proteínas [modificação pós-traducional, veja a p. 443].)

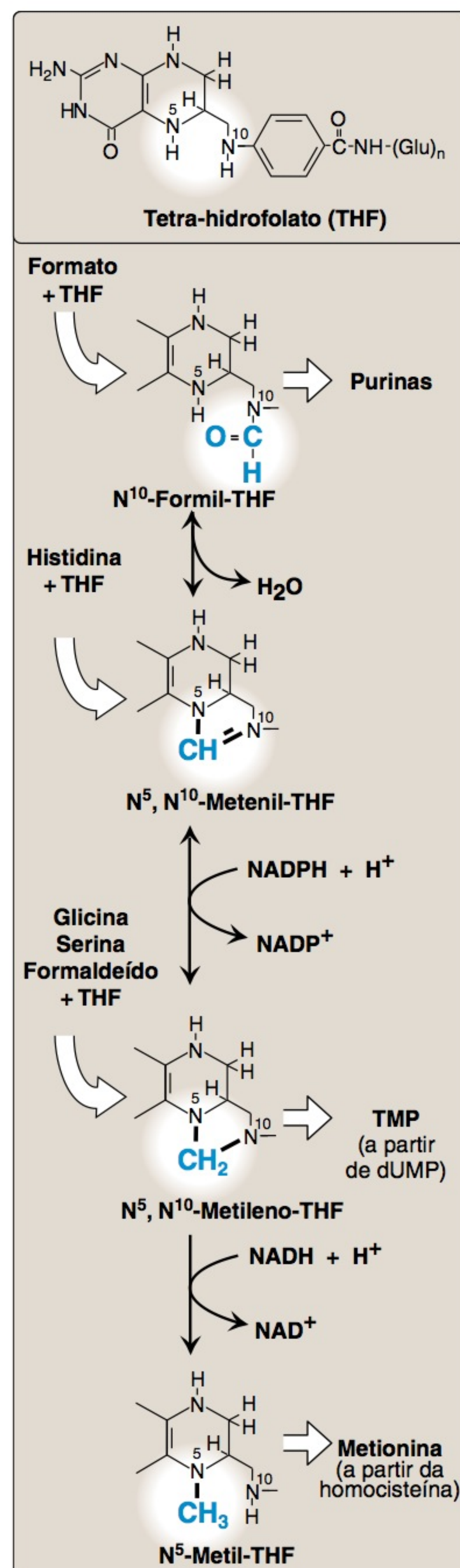
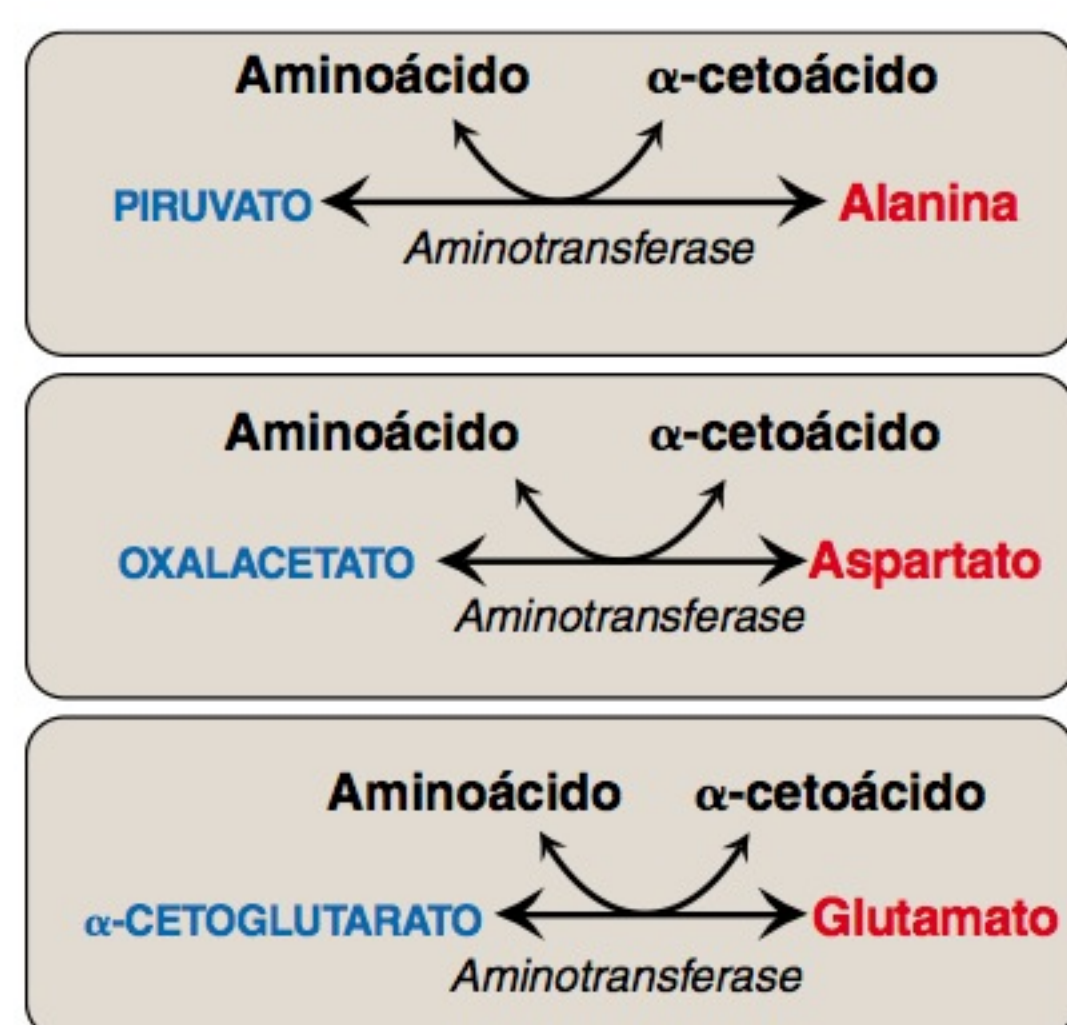


Figura 20.11

Resumo das interconversões e dos usos do carreador tetra-hidrofolato. (Nota: o $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -Metenil-THF é produzido a partir do 5-formimino-THF [veja a Figura 20.4].)

**Figura 20.12**

Formação de alanina, aspartato e glutamato a partir de seus α -cetoácidos correspondentes.

A. Síntese a partir de α -cetoácidos

Alanina, aspartato e glutamato são sintetizados por transferência de um grupo amino para os α -cetoácidos piruvato, oxalacetato e α -cetoglutarato, respectivamente. Essas reações de transaminação (Figura 20.12, veja também na p. 250) são as vias biossintéticas mais diretas. O glutamato é incomum, pois pode ser sintetizado por reversão da desaminação oxidativa, catalisada pela *glutamato-desidrogenase* (veja a p. 252).

B. Síntese por amidação

- Glutamina.** Este aminoácido tem uma ligação amida com a amônia na γ -carboxila. É formado a partir do glutamato pela *glutamina-sintetase* (veja a Figura 19.18, p. 256). A reação é impulsionada pela hidrólise de ATP. Além de produzir a glutamina para a síntese proteica, essa reação também serve de importante mecanismo para o transporte da amônia em uma forma não tóxica (veja a p. 256 para uma discussão acerca do metabolismo da amônia).
- Asparagina.** Apresentando uma ligação amida com a amônia na β -carboxila, a asparagina é formada a partir do aspartato pela *asparagina-sintetase*, utilizando a glutamina como doadora da amida. A reação requer ATP e, assim como a síntese da glutamina, possui equilíbrio bem-deslocado no sentido da síntese de asparagina.

C. Prolina

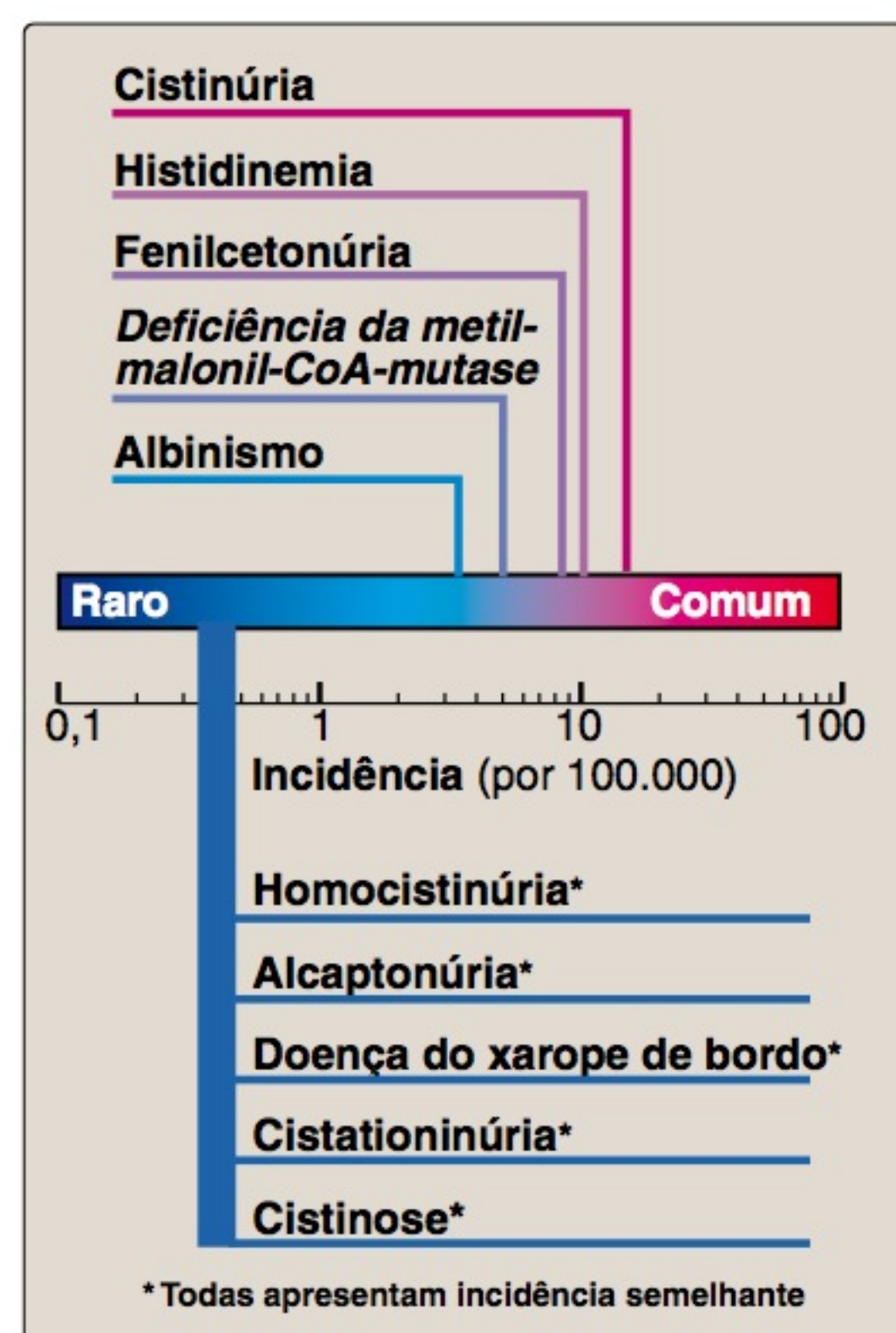
O glutamato é convertido em prolina por reações de ciclização e redução.

D. Serina, glicina e cisteína

- Serina.** Este aminoácido provém do 3-fosfoglicerato, intermediário da glicólise (veja a Figura 8.18, p. 101), oxidado primeiramente a 3-fosfopiruvato e então transaminado a 3-fosfosserina. A serina é formada por hidrólise do éster de fosfato. A serina pode também ser produzida a partir da glicina, por meio da transferência de um grupo hidroximetila pela *serina-hidroximetil-transferase*, utilizando N^5, N^{10} -metileno-THF como doador do grupo de um carbono (veja a Figura 20.6A).
- Glicina.** Este aminoácido é sintetizado a partir da serina por meio da remoção do grupo hidroximetila, também catalisado pela *serina-hidroximetil-transferase* (veja a Figura 20.6A). Oceptor do grupo de um carbono é o THF.
- Cisteína.** A cisteína é sintetizada por duas reações consecutivas, em que a homocisteína combina-se com a serina, formando cistationina, que, por sua vez, é hidrolisada a α -cetobutirato e cisteína (veja a Figura 20.8). A homocisteína é derivada da metionina, como descrito na p. 264. Sendo a metionina um aminoácido essencial, a síntese da cisteína pode ser mantida apenas se a ingestão de metionina na dieta for adequada.

E. Tirosina

A tirosina é formada a partir da fenilalanina pela *fenilalanina-hidroxilase*. A reação requer oxigênio molecular e a coenzima tetra-hidrobiopterina (BH_4), que pode ser sintetizada pelo organismo a partir de trifosfato de guanosina (GTP). Um átomo de oxigênio molecular torna-se o grupo hidroxila da tirosina; o outro átomo é reduzido a água. Durante a reação, a tetra-hidrobiopterina é oxidada a di-hidrobiopterina (BH_2). A tetra-hidrobiopterina é regenerada a partir da di-hidrobiopterina, em uma reação de-

**Figura 20.13**

Incidência de doenças herdas do metabolismo dos aminoácidos. (Nota: a cistinúria é o mais comum erro genético relacionado ao transporte dos aminoácidos.)

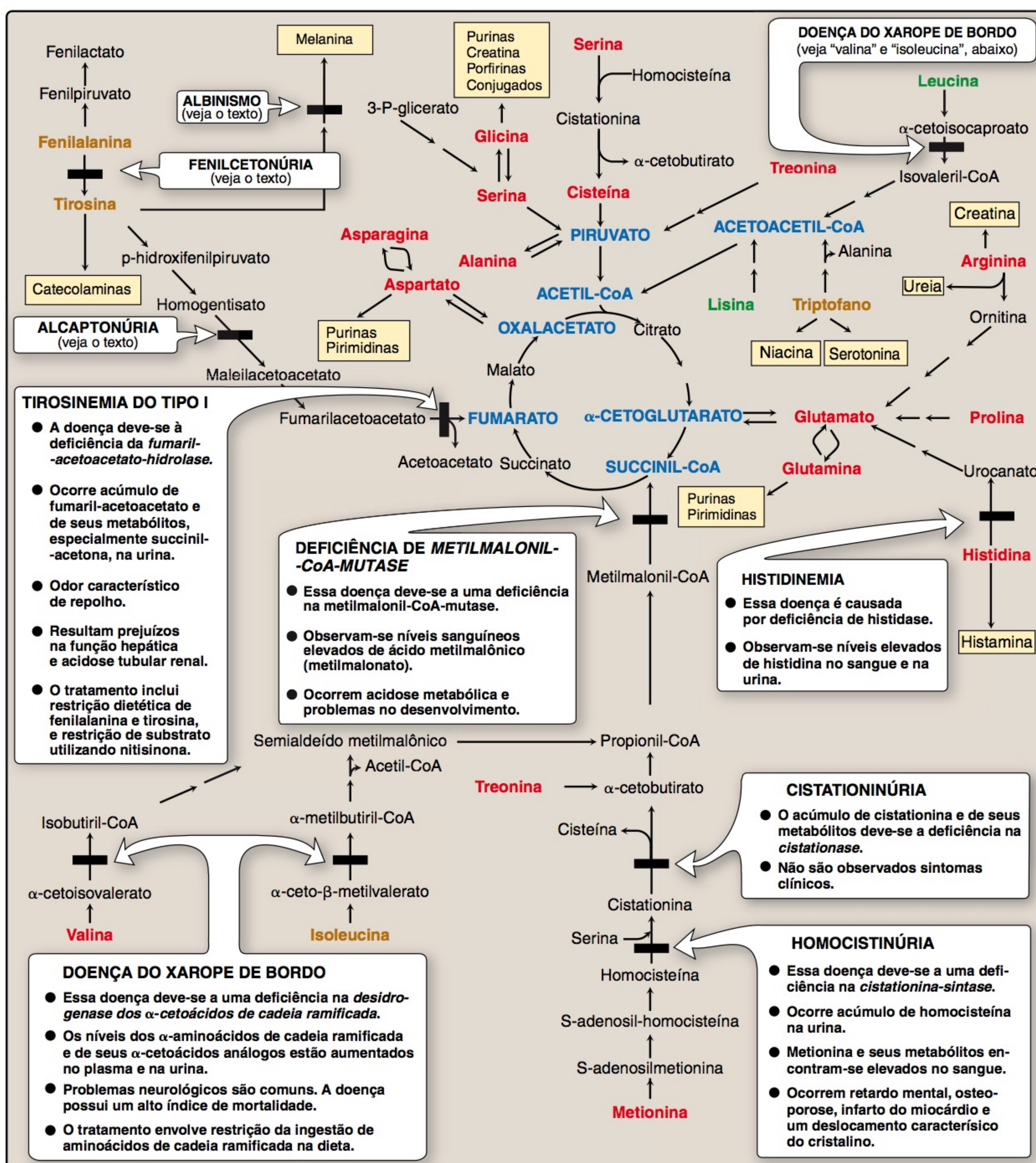
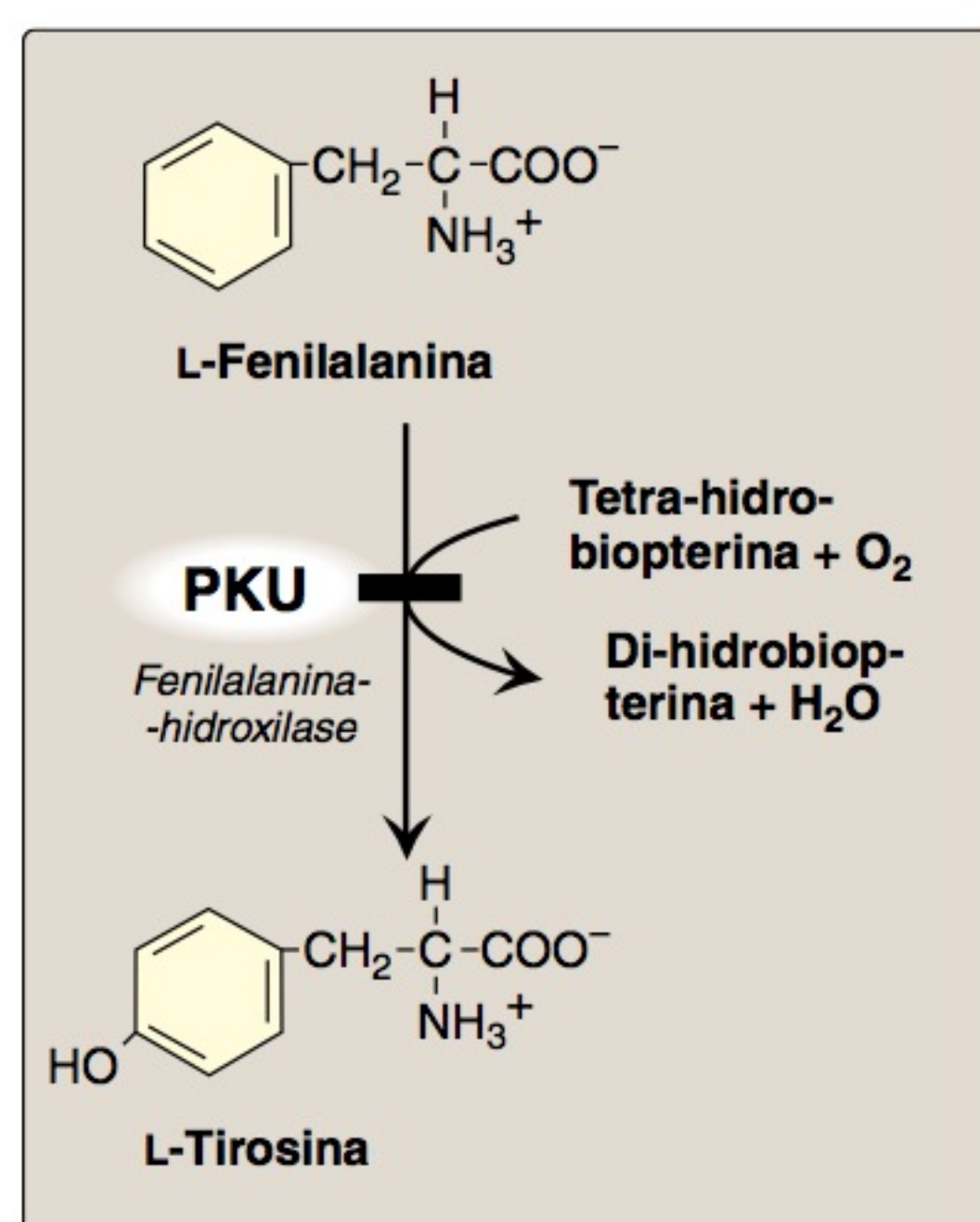


Figura 20.14

Resumo do metabolismo dos aminoácidos em humanos. Deficiências enzimáticas geneticamente determinadas estão resumidas nos quadros brancos. Compostos nitrogenados derivados dos aminoácidos são mostrados nos pequenos quadros amarelos. A classificação dos aminoácidos está codificada por cores: **vermelho** = glicogênicos; **marrom** = glicogênicos e cetogênicos; **verde** = cetogênicos. Compostos em **LETRAS MAIÚSCULAS AZUIS** são os sete metabólitos para os quais converge o metabolismo de todos os aminoácidos.

**Figura 20.15**

Uma deficiência na *fenilalanina-hidroxilase* resulta na doença denominada fenilcetonúria (PKU).

pendente de NADH, catalisada pela *di-hidropteridina-redutase*. A tirosina, a exemplo da cisteína, é sintetizada a partir de um aminoácido essencial. Portanto, comporta-se como não essencial apenas na presença de quantidades adequadas de fenilalanina na dieta.

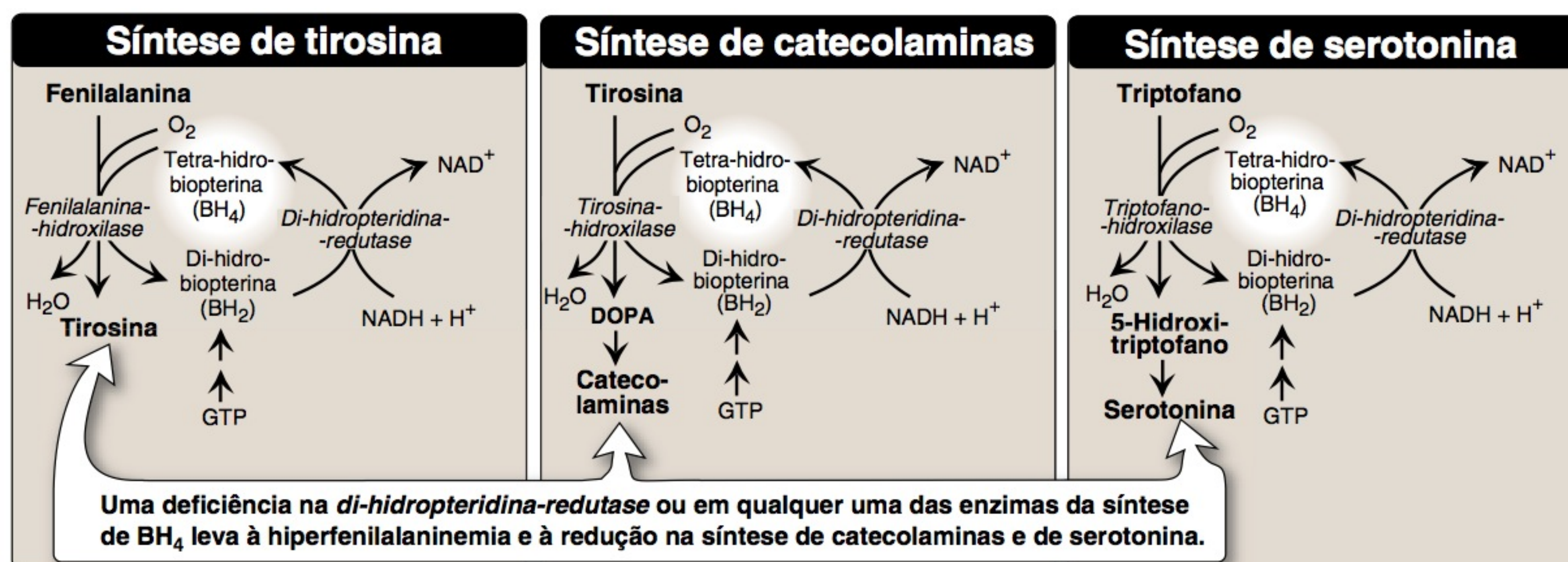
VI. DEFEITOS NO METABOLISMO DOS AMINOÁCIDOS

Erros inatos do metabolismo são normalmente causados por genes mutantes, em geral resultando em proteínas anormais, frequentemente enzimas. As deficiências hereditárias podem expressar-se como perda total da atividade da enzima ou, com mais frequência, como deficiência parcial da atividade catalítica. Sem tratamento, os defeitos hereditários do metabolismo dos aminoácidos resultam quase invariavelmente em retardo mental ou em outras anormalidades do desenvolvimento, como resultado do acúmulo danoso de metabólitos. Embora mais de 50 dessas doenças tenham sido descritas, muitas são raras, ocorrendo com frequência de menos de 1 para 250.000 na maioria das populações (Figura 20.13). Coletivamente, entretanto, constituem uma porção muito significativa das doenças genéticas pediátricas (Figura 20.14). A fenilcetonúria é a mais importante doença do metabolismo dos aminoácidos: é relativamente comum e responde a tratamento dietético.

É possível realizar testes de triagem em recém-nascidos para a detecção de diversas doenças no metabolismo dos aminoácidos, utilizando espectrometria de massa em *tandem* a partir de poucas gotas de sangue, obtidas por uma pequena incisão no calcanhar. Entretanto, a lista exata das doenças verificadas nesses testes varia de um lugar para outro. Nos Estados Unidos, por exemplo, apenas a triagem para a fenilcetonúria é obrigatória em todos os estados.

A. Fenilcetonúria

A fenilcetonúria (FCU ou PKU), causada por deficiência de *fenilalanina-hidroxilase* (Figura 20.15), é o erro inato do metabolismo dos aminoácidos encontrado com mais frequência clinicamente (prevalência 1:15.000). Bioquimicamente, caracteriza-se por acúmulo de fenilalanina (e deficiên-

**Figura 20.16**

Reações biossintéticas envolvendo aminoácidos e tetra-hidrobiopterina.

cia de tirosina). A hiperfenilalaninemia pode ser causada também por deficiências em qualquer uma das enzimas que sintetizam a coenzima BH_4 ou na *di-hidropteridina-redutase*, que regenera BH_4 a partir de BH_2 (Figura 20.16). Tais deficiências aumentam indiretamente as concentrações de fenilalanina, pois a *fenilalanina-hidroxilase* requer BH_4 como coenzima. A BH_4 é necessária também para a *tirosina-hidroxilase* e para a *triptofano-hidroxilase*, que catalisam reações na síntese de neurotransmissores como as catecolaminas e a serotonina. A simples restrição de fenilalanina na dieta não reverte os efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC) causados por deficiência nesses neurotransmissores. A terapia de reposição com BH_4 ou L-DOPA e 5-hidroxitriptofano (produtos das reações catalisadas pelas enzimas afetadas, *tirosina-hidroxilase* e *triptofano-hidroxilase*) melhora o quadro clínico nessas formas variantes de hiperfenilalaninemia, embora a resposta desses pacientes seja imprevisível.

1. Características da PKU clássica

- a. Fenilalanina elevada.** A fenilalanina está presente em concentrações elevadas nos tecidos, no plasma e na urina. Fenilactato, fenilacetato e fenilpiruvato, normalmente não produzidos em quantidades significativas na presença de *fenilalanina-hidroxilase* funcional, também apresentam-se elevados na PKU (Figura 20.17). Esses metabólitos dão à urina um odor de mofo característico (ou “de camundongo”). (Nota: a doença adquiriu seu nome devido à presença de uma fenilcetona [posteriormente identificada como fenilpiruvato] na urina.)
 - b. Sintomas do SNC.** Retardo mental, dificuldade para andar ou falar, convulsões, hiperatividade, tremor, microcefalia e retardo no crescimento são características da PKU. O paciente com PKU não tratada apresenta tipicamente sintomas de retardo mental ao atingir um ano de idade e raramente alcança um QI maior que 50 (Figura 20.18). (Nota: essas manifestações clínicas são raramente observadas hoje em dia, como resultado dos programas de triagem neonatal.)
 - c. Hipopigmentação.** Os pacientes com fenilcetonúria frequentemente apresentam deficiência na pigmentação (cabelo e pele claros, olhos azuis). A hidroxilação da tirosina pela *tirosinase*, o primeiro passo na formação do pigmento melanina, é inibida competitivamente pelos níveis elevados de fenilalanina presentes na PKU.
- 2. Triagem e diagnóstico neonatal de PKU.** O diagnóstico precoce da fenilcetonúria é importante, pois a doença é tratável por meio de dieta adequada. Devido à ausência de sintomas neonatais, testes laboratoriais para níveis elevados de fenilalanina no sangue são obrigatórios para a detecção. No entanto, o bebê com PKU frequentemente apresenta níveis sanguíneos normais de fenilalanina ao nascimento, pois a mãe depura os níveis aumentados de fenilalanina no sangue do feto afetado, através da placenta. Níveis normais de fenilalanina podem persistir até o recém-nascido ser exposto a 24 a 48 horas de alimentação com proteína. Assim, para evitar falsos negativos, os testes de triagem são normalmente realizados após esse período. Para recém-nascidos com teste de triagem positivo, o diagnóstico é confirmado por meio da determinação quantitativa dos níveis de fenilalanina.
 - 3. Diagnóstico pré-natal de PKU.** A PKU clássica engloba uma família de doenças, causadas por uma entre 100 ou mais mutações diferen-

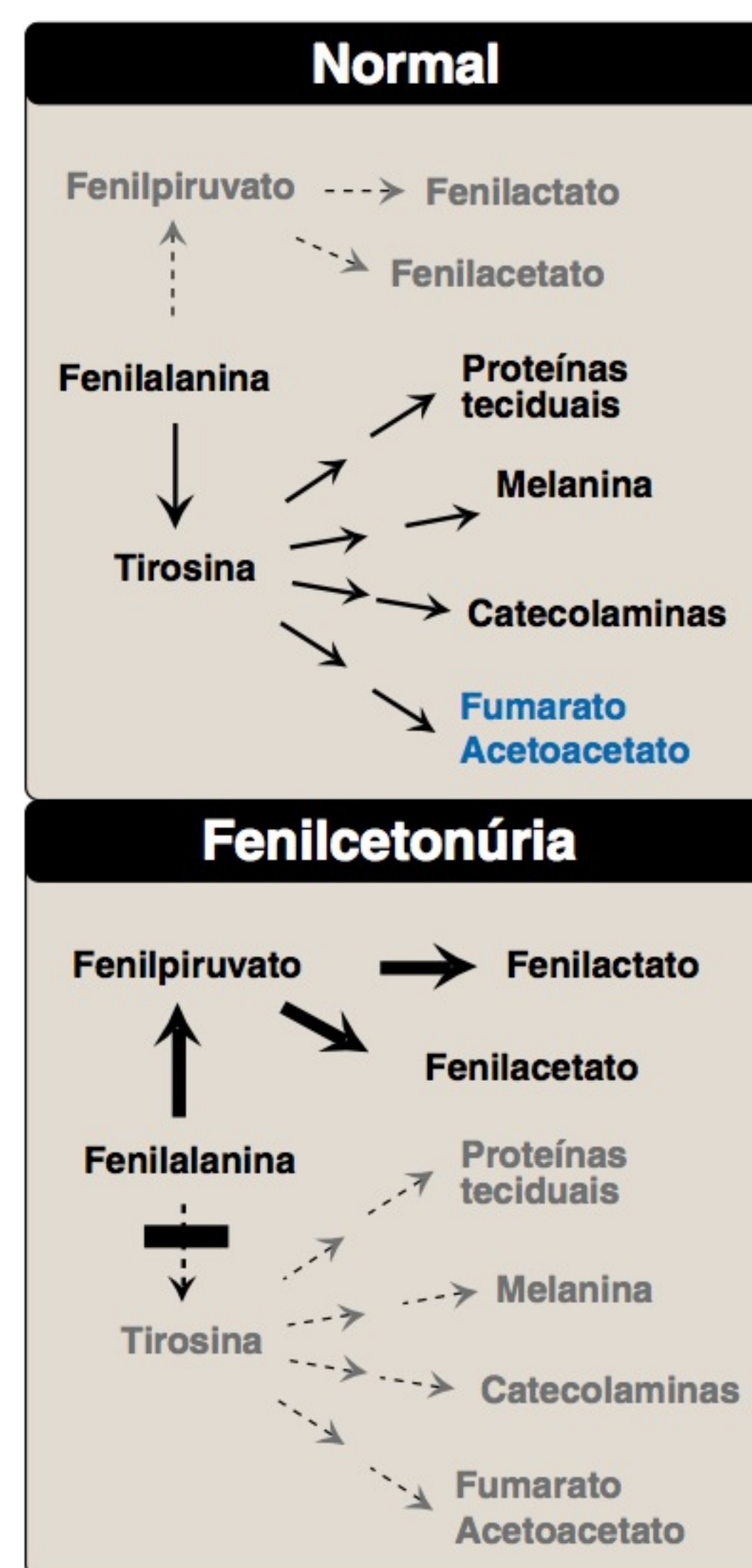


Figura 20.17

Vias metabólicas da fenilalanina em indivíduos normais e em pacientes com fenilcetonúria.

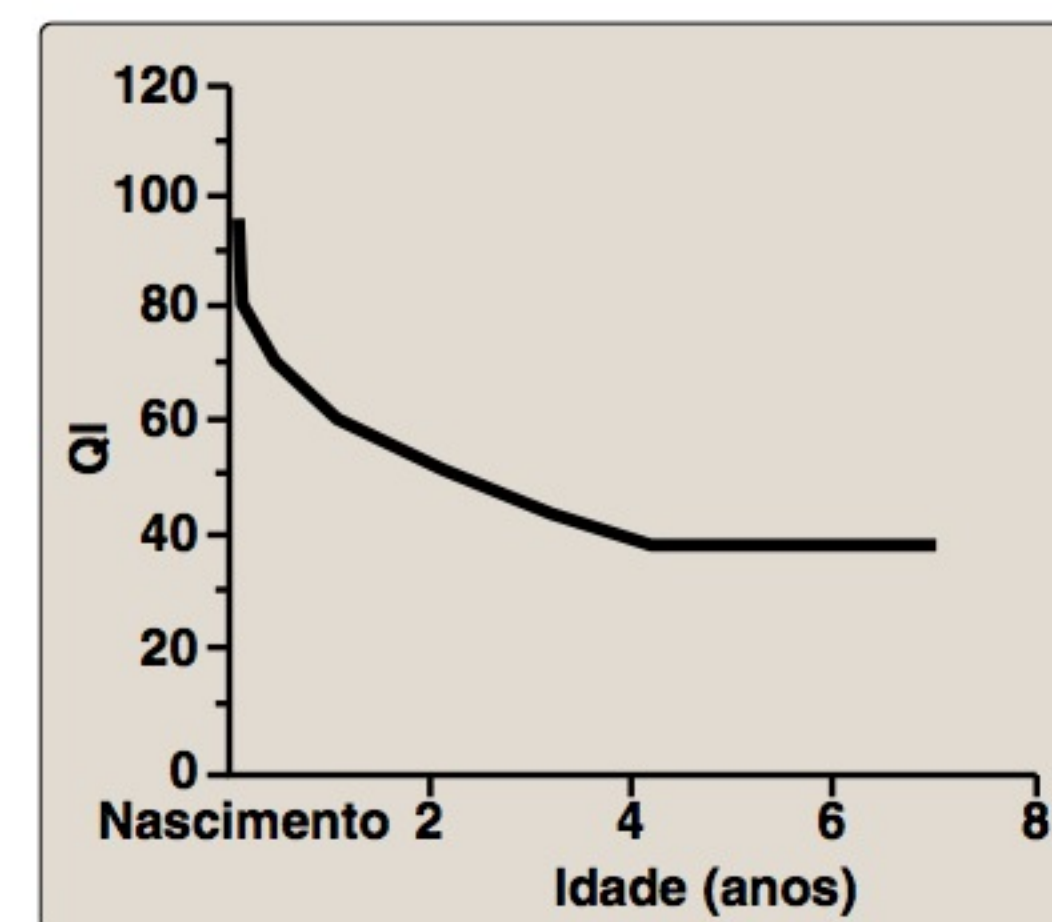


Figura 20.18

Capacidade intelectual típica em pacientes com PKU não tratados, de diferentes idades.

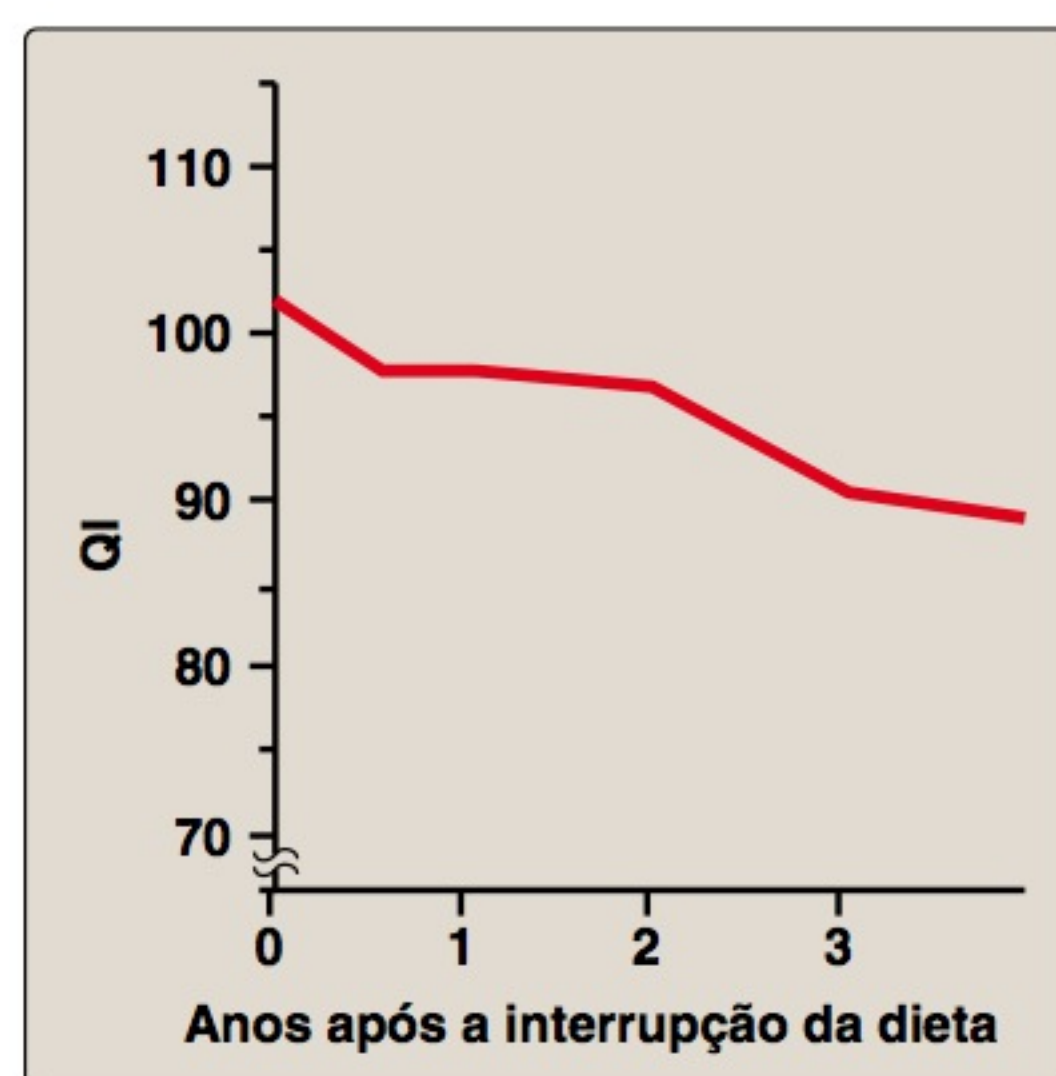


Figura 20.19

Alterações nos escores de QI após interrupção de uma dieta com baixo conteúdo de fenilalanina, em pacientes com fenilcetonúria.

tes no gene que codifica a *fenilalanina-hidroxilase* (PAH). A frequência de uma determinada mutação varia entre as populações. Com frequência, a doença é duplamente heterozigota, ou seja, o gene PAH apresenta uma mutação diferente em cada alelo. Apesar dessa complexidade, o diagnóstico pré-natal é possível (veja a p. 477).

4. **Tratamento da PKU.** A maioria das proteínas naturais contém fenilalanina. Por isso, é impossível satisfazer as necessidades proteicas do organismo com uma dieta normal sem exceder os limites para a fenilalanina. Portanto, na PKU, a fenilalanina no sangue é mantida próxima aos limites normais utilizando-se como alimento preparos de aminoácidos sintéticos com baixo conteúdo de fenilalanina, suplementados com alimentos naturais (como frutas, vegetais e certos cereais) selecionados por seu baixo conteúdo de fenilalanina. A quantidade é ajustada de acordo com a tolerância de cada indivíduo, medida pelos níveis sanguíneos de fenilalanina. Quanto mais cedo é iniciado o tratamento, mais completamente pode ser prevenido o dano neurológico. (Nota: o tratamento deve iniciar entre os primeiros sete a dez dias de vida para prevenir retardo mental.) Uma vez que a fenilalanina é um aminoácido essencial, um tratamento excessivamente zeloso, que resulte em níveis séricos de fenilalanina abaixo do normal, deve ser evitado, pois isso pode levar a retardo no crescimento e a sintomas neurológicos. Nos pacientes com PKU, como a tirosina não pode ser sintetizada a partir da fenilalanina, ela acaba se tornando um aminoácido essencial que deve ser fornecido na dieta. Uma descontinuidade na dieta com restrição de fenilalanina antes dos oito anos de idade está associada a baixo desempenho em testes de QI. Pacientes adultos com PKU apresentam deterioração em seus graus de QI após interromperem a dieta (Figura 20.19). A restrição de fenilalanina durante toda a vida é, portanto, recomendada. (Nota: indivíduos com PKU são aconselhados a evitar o aspartame, um adoçante artificial que contém fenilalanina.)
5. **PKU materna.** Quando mulheres com PKU que não estão sob dieta com restrição de fenilalanina engravidam, o bebê é afetado pela “síndrome da PKU materna”. Os altos níveis séricos de fenilalanina na mãe levam a microcefalia, retardo mental e anormalidades cardíacas congênitas no feto – a fenilalanina funciona então como uma substância teratogênica. Algumas dessas respostas do desenvolvimento a níveis altos de fenilalanina ocorrem durante os primeiros meses de gestação. Assim, o controle dietético da fenilalanina sanguínea deve iniciar antes da concepção e deve ser mantido durante toda a gestação.

B. Doença do xarope de bordo

A doença do xarope de bordo (MSUD, de *maple syrup urine disease*) é uma doença recessiva autossômica rara (1:185.000), em que há deficiência parcial ou completa na *desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada*, complexo enzimático que descarboxila leucina, isoleucina e valina (veja a Figura 20.10). Esses aminoácidos e seus α -cetoácidos correspondentes acumulam-se no sangue, causando um efeito tóxico que interfere nas funções encefálicas. A doença caracteriza-se por problemas alimentares, vômitos, desidratação, acidose metabólica grave e um odor característico de xarope de bordo na urina. Se não for tratada, a doença leva a retardo mental, incapacidades físicas e até mesmo à morte.

1. **Classificação.** O termo doença do xarope de bordo inclui uma forma clássica e diversas formas variantes da doença. A forma clássica é o tipo mais comum de MSUD. Os leucócitos ou os fibroblastos da pele, obtidos desses pacientes e cultivados, apresentam pouca ou nenhuma atividade da *desidrogenase dos α -cetoácidos de ca-*

deia ramificada. Bebês com MSUD clássica apresentam sintomas nos primeiros dias de vida. Se não for diagnosticada e tratada, a MSUD clássica é letal nas primeiras semanas de vida. Pacientes com formas intermediárias apresentam níveis mais elevados, quando comparados à MSUD clássica, de atividade enzimática (aproximadamente 3 a 15% do normal). Os sintomas são menos graves e iniciam entre a infância e a idade adulta. Em pacientes com a rara variante de MSUD responsiva à tiamina, a atividade da *desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada* é aumentada ao serem administradas doses elevadas dessa vitamina.

2. **Triagem e diagnóstico.** Assim como para a PKU, testes para diagnóstico pré-natal e triagem neonatal estão disponíveis, e a maior parte dos indivíduos afetados é de heterozigotos compostos.
3. **Tratamento.** A doença é tratada com uma fórmula sintética que contém quantidades limitadas de leucina, isoleucina e valina – suficiente para fornecer os aminoácidos de cadeia ramificada necessários para o crescimento e o desenvolvimento normais sem alcançar níveis tóxicos. O diagnóstico precoce e o tratamento durante toda a vida são essenciais para a criança com MSUD desenvolver-se normalmente. (Nota: os aminoácidos com cadeia ramificada são uma importante fonte de energia em períodos de necessidade metabólica. Por isso, indivíduos com MSUD correm o risco de descompensarem durante períodos de catabolismo proteico aumentado.)



Figura 20.20

Paciente com albinismo oculocutâneo, mostrando sobrancelhas e cílios brancos.

C. Albinismo

O albinismo refere-se a um grupo de condições em que um defeito no metabolismo da tirosina conduz a uma deficiência na produção de melanina. Esses defeitos resultam na ausência parcial ou completa do pigmento da pele, do cabelo e dos olhos. O albinismo aparece em diferentes formas e pode ser herdado de diversos modos: autossômico recessivo (principal forma), autossômico dominante ou ligado ao X. O albinismo completo (também denominado albinismo oculocutâneo *tirosinase* negativo) resulta da deficiência na atividade da enzima dependente de cobre *tirosinase*, causando ausência total do pigmento de cabelos, olhos e pele (Figura 20.20). É a forma mais grave dessa condição. Além da hipopigmentação, indivíduos afetados podem apresentar ainda problemas de visão e fotofobia (a luz solar é dolorosa para seus olhos). Apresentam também risco aumentado para câncer de pele.

D. Homocistinúria

As homocistinúrias compreendem um grupo de doenças envolvendo defeitos no metabolismo da homocisteína. As doenças são herdadas como autossômicas recessivas, caracterizadas por níveis elevados de homocisteína e de metionina no plasma e na urina e baixos níveis de cisteína. A causa mais comum da homocistinúria é um defeito na enzima *cistationina- β -sintase*, que converte a homocisteína em cistationina (Figura 20.21). Indivíduos homozigotos para a deficiência da *cistationina- β -sintase* apresentam *ectopia lentis* (deslocamento do cristalino do olho), anormalidades esqueléticas, tendência a formar trombos, osteoporose e déficits neurológicos. Os pacientes podem responder ou não à administração oral de piridoxina (vitamina B₆) – coenzima da *cistationina- β -sintase*. Pacientes responsivos à vitamina B₆ frequentemente apresentam início menos grave e mais tardio dos sintomas clínicos, comparados aos pacientes não responsivos à B₆. O tratamento inclui restrição da ingestão de metionina e suplementação com as vitaminas B₆, B₁₂ e folato.

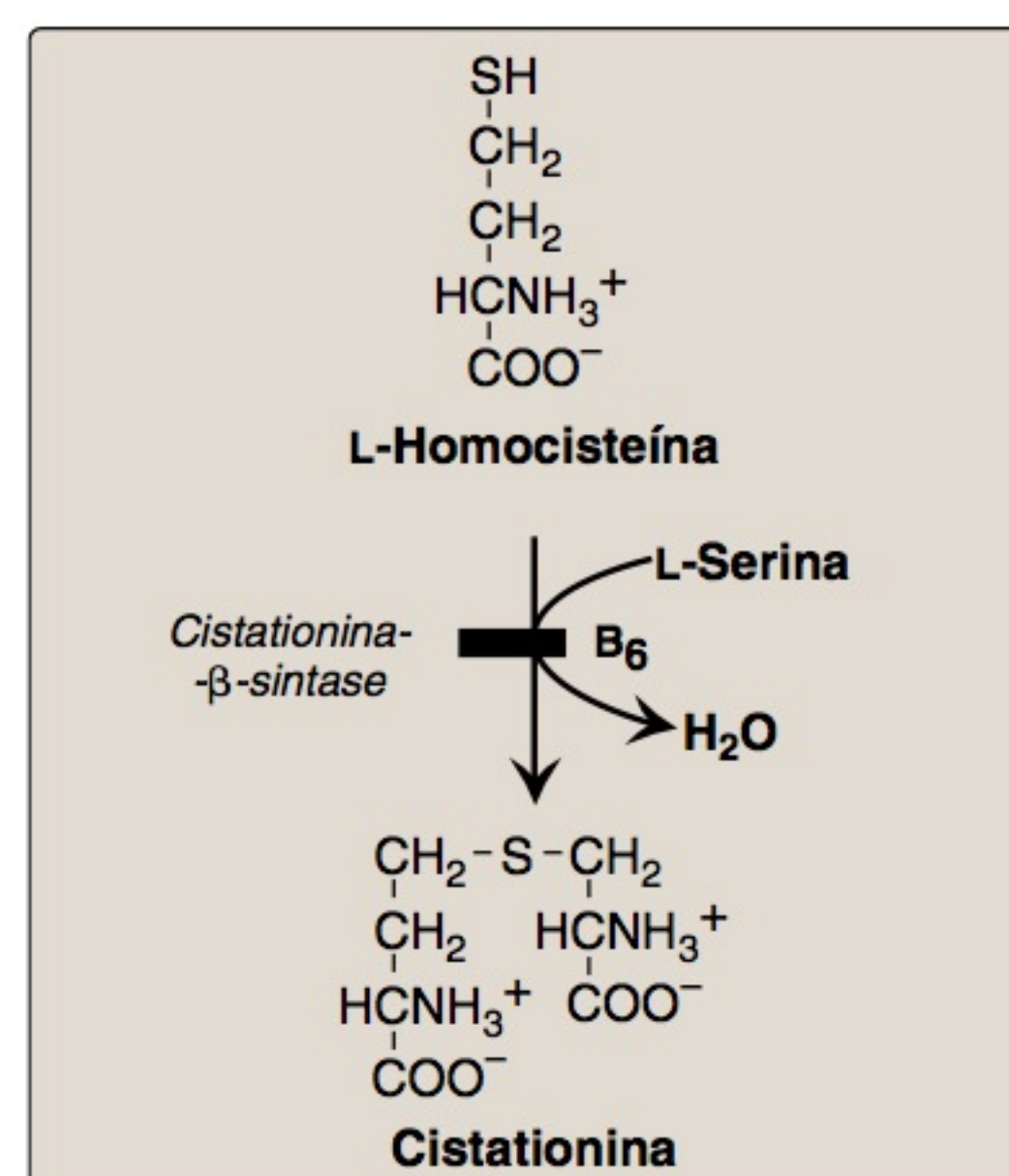


Figura 20.21

Deficiência enzimática na homocistinúria.

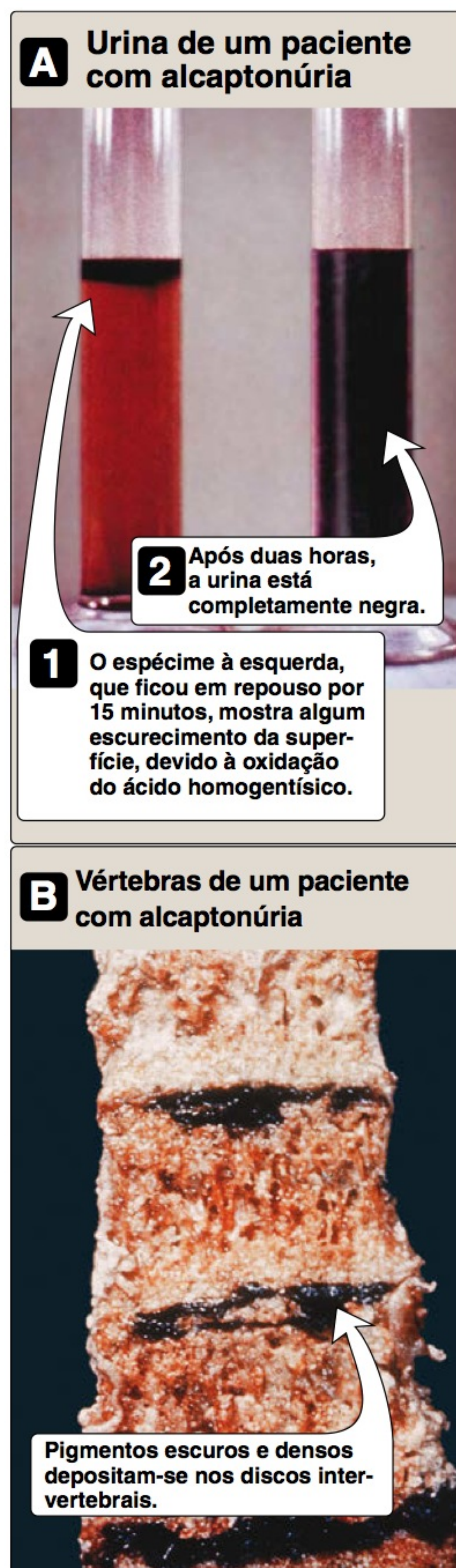


Figura 20.22

Um paciente com alcaptonúria. A. Urina. B. Vértex.

E. Alcaptonúria

A alcaptonúria é uma condição metabólica rara que envolve deficiência na enzima *ácido homogentísico-oxidase*, resultando no acúmulo de ácido homogentísico. (Nota: essa reação ocorre na via degradativa da tirosina, p. 269.) A doença apresenta três sintomas característicos: acidúria homogentísica (a urina do paciente contém níveis elevados de ácido homogentísico, que se oxida a um pigmento escuro quando a urina é deixada em repouso; Figura 20.22A), artrite que acomete as grandes articulações e ocrônose – pigmentação escura da cartilagem e do tecido conjuntivo (Figura 20.22B). Pacientes com alcaptonúria normalmente são assintomáticos até os 40 anos. Uma coloração escura nas fraldas algumas vezes pode indicar a doença em bebês, mas normalmente antes dos 40 anos não há sintomas presentes. Dietas com pouca proteína – especialmente com baixa quantidade de fenilalanina e tirosina – ajudam a reduzir os níveis de ácido homogentísico e diminuem a quantidade de pigmento depositado nos tecidos. Embora a alcaptonúria não represente ameaça à vida, a artrite associada pode ser gravemente incapacitante.

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

Os aminoácidos cujo catabolismo produz **piruvato** ou **intermediários do ciclo do ácido cítrico** são denominados **glicogênicos** (Figura 20.23). Eles podem levar à produção efetiva de **glicose** no **fígado** e no **rim**. Os aminoácidos glicogênicos são: glutamina, glutamato, prolina, arginina, histidina, alanina, serina, glicina, cisteína, metionina, valina, treonina, aspartato e asparagina. Os aminoácidos cujo catabolismo produz **acetoacetato** ou seus precursores **acetil-coenzima A (CoA)** e **acetoacetil-CoA** são denominados **cetogênicos**. A leucina e a lisina são exclusivamente cetogênicas. Tirosina, fenilalanina, triptofano e isoleucina são tanto cetogênicos quanto glicogênicos. Os aminoácidos **não essenciais** podem ser sintetizados a partir de intermediários metabólicos ou a partir dos esqueletos carbonados dos aminoácidos essenciais. Os **aminoácidos essenciais** devem ser obtidos a partir da **dieta** e **incluem** histidina, metionina, treonina, valina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, leucina e lisina. A **fenilcetonúria (PKU)** é causada por **deficiência** da **fenilalanina-hidroxilase** – enzima que converte fenilalanina em tirosina. A **hiperfenilalaninemia** pode ser causada também por deficiências nas enzimas que sintetizam ou reduzem a coenzima da hidroxilase, a **tetra-hidrobiopterina**. Pacientes com PKU não tratada apresentam **retardo mental**, dificuldade para caminhar ou falar, convulsões, hiperatividade, tremores, microcefalia, deficiências no crescimento e odor característico da urina. O tratamento envolve o controle da fenilalanina na dieta. Observe que a tirosina torna-se componente essencial na dieta de indivíduos com PKU. A **doença do xarope de bordo (MSUD)** é uma doença recessiva em que há **deficiência** parcial ou completa na **desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada** – enzima que descarboxila **leucina, isoleucina e valina**. Os sintomas incluem problemas alimentares, vômitos, desidratação, acidose metabólica grave e odor característico da urina. Se não for tratada, a doença leva a **retardo mental**, incapacidades físicas e morte. O tratamento da MSUD envolve uma fórmula sintética com quantidades limitadas de leucina, isoleucina e valina. Outras doenças genéticas importantes associadas ao metabolismo dos aminoácidos incluem o **albinismo**, a **homocistinúria**, a **deficiência de metilmalonil-CoA-mutase**, a **alcaptonúria**, a **histidinemia**, a **tirosinemia** e a **cistationinúria**.

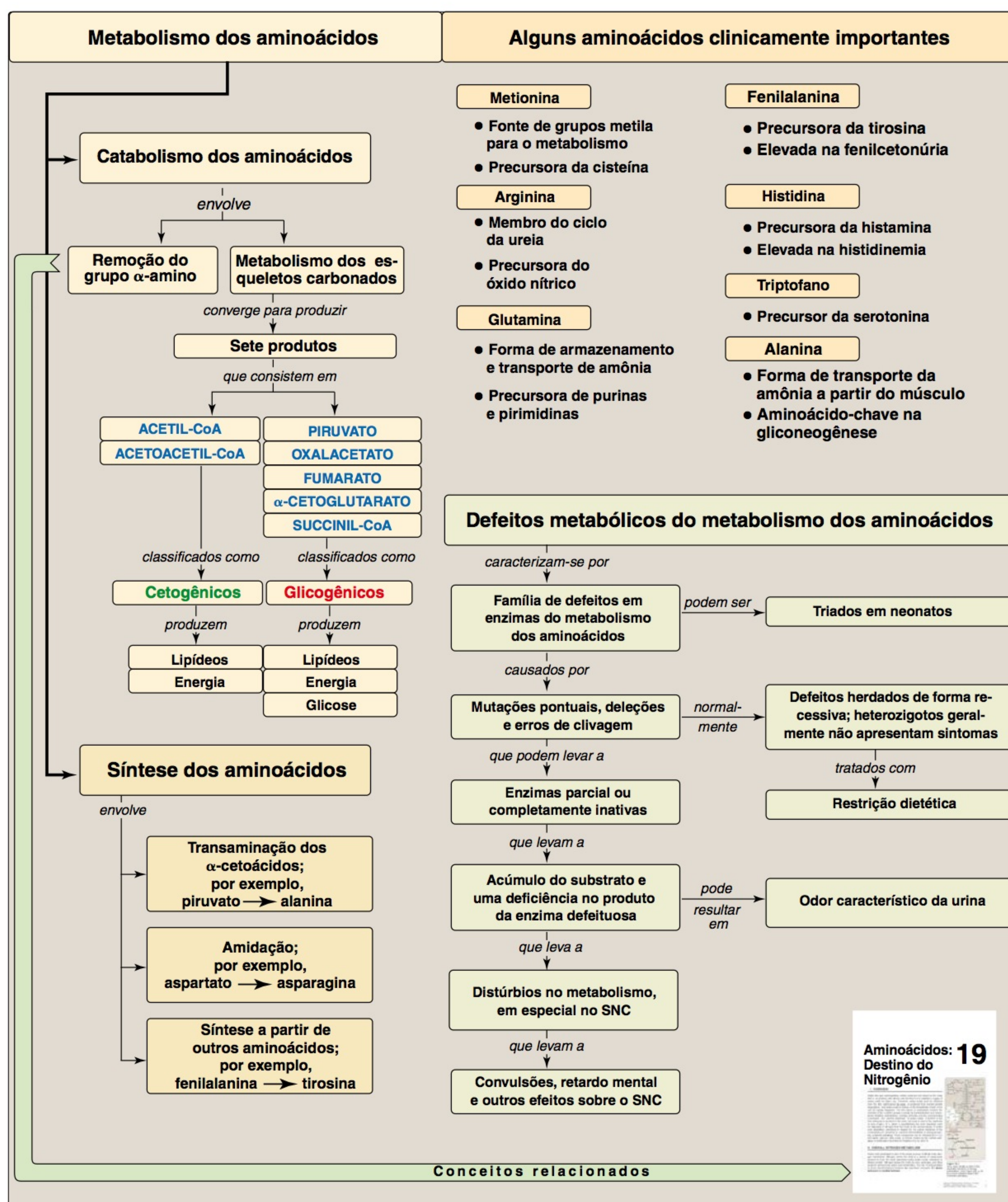


Figura 20.23

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo dos aminoácidos.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 20.1 Qual das seguintes afirmativas a respeito dos aminoácidos está correta?
- O aumento na gliconeogênese a partir de aminoácidos resulta em diminuição na síntese de ureia.
 - Todos os aminoácidos essenciais são glicogênicos.
 - A ornitina e a citrulina são encontradas em proteínas teciduais.
 - A cisteína é um aminoácido essencial em indivíduos que consomem dieta com quantidades muito baixas de metionina.
 - Na presença de fontes adequadas de tirosina na dieta, a fenilalanina não é um aminoácido essencial.
- 20.2 Qual das seguintes afirmativas a respeito de um bebê do sexo masculino de uma semana de idade com fenilcetonúria clássica não detectada está correta?
- A tirosina é um aminoácido não essencial para o bebê.
 - Níveis elevados de fenilpiruvato aparecem em sua urina.
 - A terapia deve iniciar dentro do primeiro ano de vida.
 - Uma dieta desprovida de fenilalanina deve ser iniciada imediatamente.
 - Quando o bebê alcançar a idade adulta, recomenda-se que a terapia dietética seja interrompida.
- 20.3 Um menino de quatro anos de idade, filho de pais consanguíneos em primeiro grau, apresentou urina que, em repouso, escurecia até ficar quase preta. Ele tem um irmão normal e não apresenta qualquer outro problema médico. O crescimento e o desenvolvimento têm sido normais. Qual dos seguintes compostos é o mais provável de estar elevado neste paciente?
- Metilmalonato.
 - Homogentisato.
 - Fenilpiruvato.
 - α -cetooisovalerato.
 - Homocisteína.
- 20.4 Qual a enzima deficiente em cada uma das seguintes condições: homocistinúria, acidemia metilmalônica, MSUD, albinismo oculocutâneo e PKU?

Resposta correta = D. A metionina é o precursor da cisteína. Um aumento na disponibilidade de aminoácidos gliconeogênicos, oriundos do catabolismo das proteínas teciduais, libera maior quantidade de amônia e resulta em produção aumentada de ureia. Os aminoácidos essenciais leucina e lisina são cetogênicos. A ornitina e a citrulina são aminoácidos que são intermediários no ciclo da ureia, mas não são encontrados nas proteínas teciduais, pois não há códons para eles. A fenilalanina é essencial, independentemente dos níveis de tirosina na dieta.

Resposta correta = B. Fenilactato, fenilacetato e fenilpiruvato, normalmente não produzidos em quantidade significativa na presença de fenilalanina-hidroxilase funcional, encontram-se elevados na PKU e aparecem na urina. Nos pacientes com PKU, a tirosina não pode ser sintetizada a partir da fenilalanina e, assim, torna-se essencial e deve ser fornecida na dieta. O tratamento deve iniciar durante os primeiros 7 a 10 dias de vida para prevenir retardo mental. A interrupção da dieta com restrição de fenilalanina antes dos oito anos de idade está associada a desempenho prejudicado em testes de QI. Pacientes adultos com PKU apresentam deterioração da atenção e da velocidade de processamento mental após interrupção da dieta. Níveis elevados de fenilalanina são teratogênicos. Portanto, a restrição de fenilalanina na dieta durante toda a vida é recomendável.

Resposta correta = B. A alcaptonúria é uma doença metabólica rara, envolvendo deficiência na ácido homogentísico-oxidase e o acúmulo subsequente de ácido homogentísico na urina, que se torna escura ao ficar em repouso. Aumentos nos níveis de metilmalonato (por deficiência na metilmalonil-CoA-mutase), de fenilpiruvato (por deficiência na fenilalanina-hidroxilase), de α -cetooisovalerato (por deficiência na desidrogenase dos α -cetooácidos de cadeia ramificada) e de homocisteína (por deficiência na cistationina- β -sintase) são inconsistentes com uma criança saudável com escurecimento da urina.

Resposta: Cistationina- β -sintase, metilmalonil-CoA-mutase, desidrogenase dos α -cetooácidos de cadeia ramificada, tirosinase, fenilalanina-hidroxilase. (Nota: deficiência de di-hidropteridina-redutase ou qualquer das enzimas necessárias para a síntese de BH₄ podem também resultar em hiperfenilalaninemia.)

Conversão dos Aminoácidos em Produtos Especializados

I. VISÃO GERAL

Além de servirem como blocos constitutivos das proteínas, os aminoácidos são precursores de muitos compostos nitrogenados que apresentam importantes funções fisiológicas (Figura 21.1). Essas moléculas incluem porfirinas, neurotransmissores, hormônios, purinas e pirimidinas.

II. METABOLISMO DAS PORFIRINAS

As porfirinas são compostos cíclicos que se ligam facilmente a íons metálicos – geralmente Fe^{2+} ou Fe^{3+} . A metaloporfirina mais abundante em humanos é o heme, que consiste em um átomo de ferro na forma de íon ferroso (Fe^{2+}) coordenado no centro de um anel tetrapirrólico de protoporfirina IX (veja a p. 280). O heme é o grupo prostético da hemoglobina, da mioglobina, dos citocromos, da *catalase*, da *óxido nítrico-sintase* e da *peroxidase*. Essas hemoproteínas são rapidamente sintetizadas e degradadas. Por exemplo, 6 a 7 g de hemoglobina são sintetizados por dia para substituir o heme perdido na renovação normal dos eritrócitos. Essa renovação encontra-se coordenada com a síntese e a degradação simultâneas das porfirinas associadas às hemoproteínas e com a reciclagem dos íons de ferro a elas ligados.

A. Estrutura das porfirinas

As porfirinas são moléculas cíclicas, formadas pela união de quatro anéis pirrólicos por meio de pontes metenila (Figura 21.2). Três características estruturais dessas moléculas são relevantes para a compreensão de sua importância médica.

1. **Cadeias laterais.** Diferentes porfirinas variam de acordo com a natureza das cadeias laterais ligadas a cada um dos quatro anéis pirrólicos. Por exemplo, a uroporfirina contém em suas cadeias laterais os grupos acetato ($-\text{CH}_2-\text{COO}^-$) e propionato ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$); a coproporfirina apresenta os grupos metila ($-\text{CH}_3$) e propionato; e a protoporfirina IX (e o heme) contém os grupos vinila ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), metila e propionato.

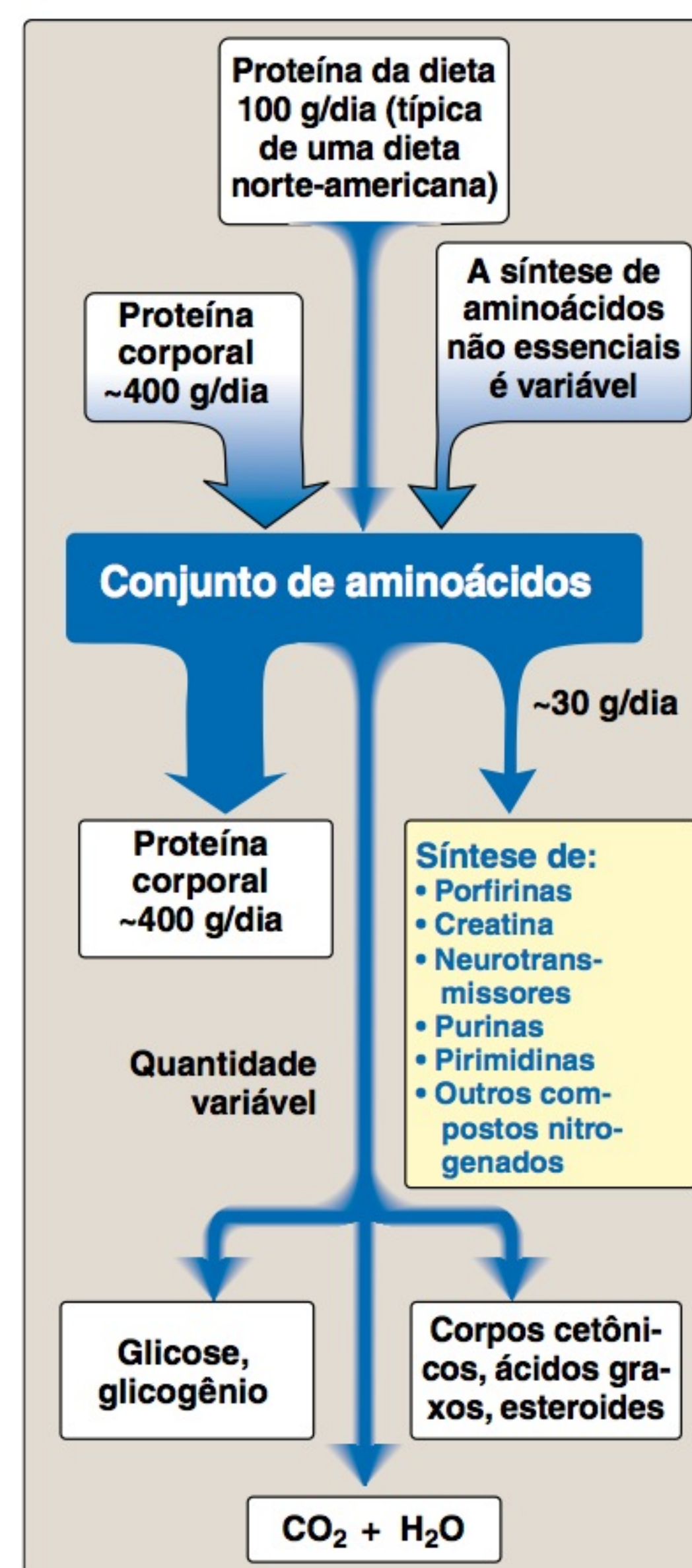


Figura 21.1

Aminoácidos como precursores de compostos nitrogenados.

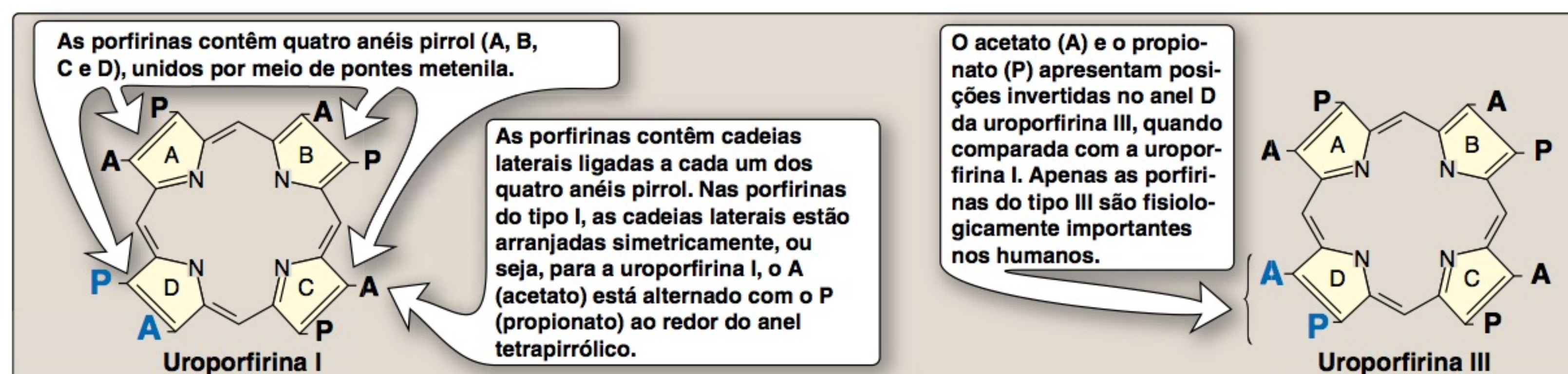


Figura 21.2

Estruturas da uroporfirina I e da uroporfirina III. A = acetato e P = propionato.

(Nota: os grupos metila e vinila são produzidos por descarboxilação das cadeias laterais acetato e propionato, respectivamente.)

2. **Distribuição das cadeias laterais.** As cadeias laterais das porfirinas podem ser ordenadas ao redor do núcleo tetrapirrólico de quatro maneiras diferentes, designadas pelos numerais romanos I a IV. Apenas as porfirinas do tipo III, que contêm uma substituição assimétrica no anel D (veja a Figura 21.2), são importantes fisiologicamente em humanos. (Nota: a protoporfirina IX faz parte da série das porfirinas do tipo III.)

3. **Porfirinogênios.** Esses precursores de porfirinas (p. ex., o uroporfirinogênio) são quimicamente reduzidos e incolores. Na biossíntese do heme, os porfirinogênios atuam como intermediários entre o porfobilinogênio e as protoporfirinas, oxidadas e coloridas.

B. Biossíntese do heme

Os principais sítios para a biossíntese do heme são o fígado, que sintetiza diversas hemoproteínas (em especial as proteínas citocromo P450), e as células produtoras de eritrócitos da medula óssea, ativas na síntese de hemoglobina. (Nota: mais de 85% de toda a síntese de heme ocorre no tecido eritroide.) No fígado, a velocidade de síntese do heme é altamente variável, respondendo a alterações nas quantidades de heme na célula, causadas por flutuações na demanda por hemoproteínas. Em contraste, a síntese de heme nas células eritroides é relativamente constante e se equipara à taxa de síntese de globina. A reação inicial e os últimos três passos na formação das porfirinas ocorrem na mitocôndria, já os passos intermediários da via biossintética ocorrem no citosol (veja a Figura 21.8). (Nota: os eritrócitos maduros não apresentam mitocôndria e são incapazes de sintetizar o heme.)

1. **Formação de ácido δ -aminolevulínico (ALA).** Todos os átomos de carbono e de nitrogênio da molécula da porfirina são fornecidos por dois blocos construtivos simples: a glicina (aminoácido não essencial) e a succinil-coenzima A (intermediário do ciclo do ácido cítrico). A glicina e a succinil-CoA condensam para formar o ALA em uma reação catalisada pela *ALA-sintase* (ALAS) (Figura 21.3). Essa reação requer piridoxal-fosfato (PLP) como coenzima, é a primeira etapa exclusiva para essa via e também controla a velocidade na biossíntese de porfirinas. (Nota: há duas isoformas de ALAS, 1 e 2, controladas por diferentes mecanismos. O tecido eritroide produz apenas ALAS2, cujo gene está localizado no cromossomo X. Mutações com perda de funcionalidade da ALAS2 resultam em anemia sideroblástica ligada ao X.)

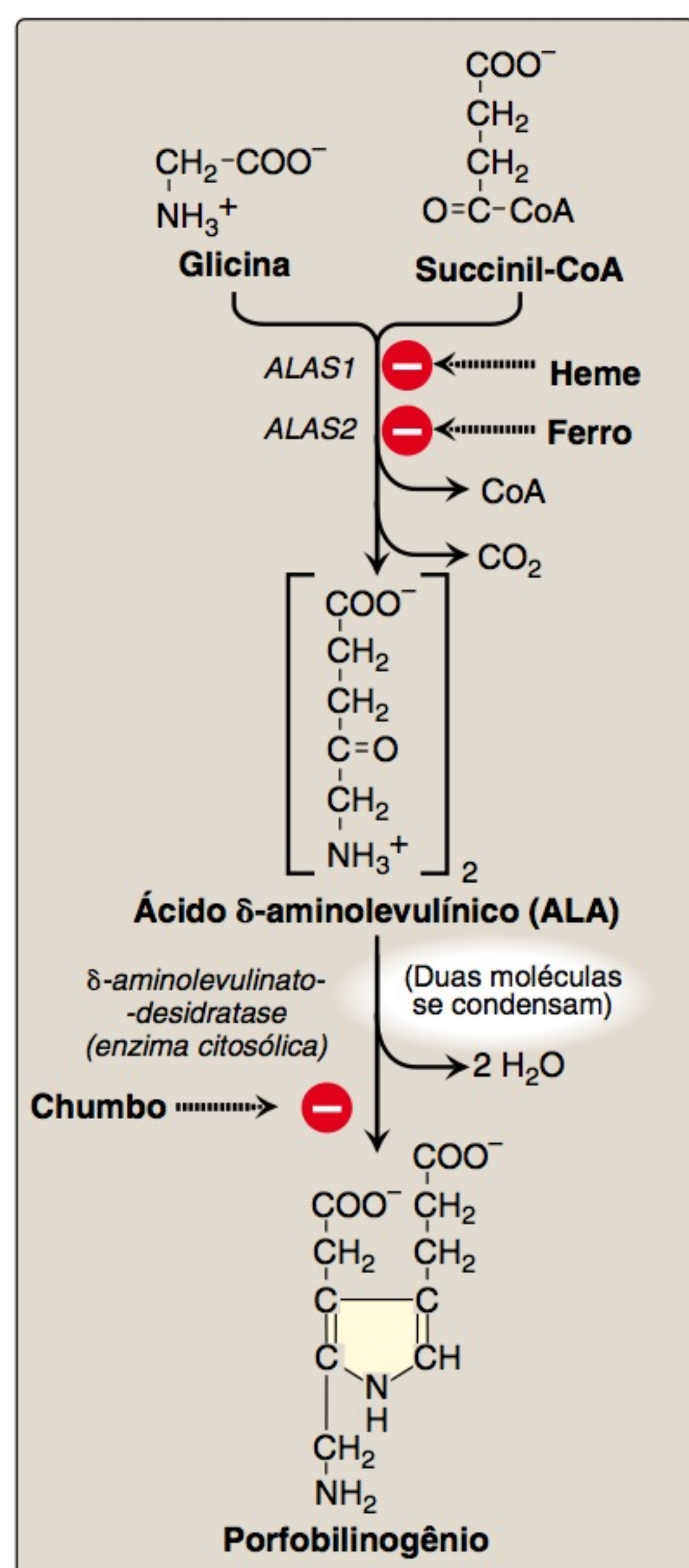


Figura 21.3

Via de síntese da porfirina: formação de porfobilinogênio. ALAS = δ -aminolevulinato-sintase. (Continua nas Figuras 21.4 e 21.5.)

- a. **Inibição da ALAS1 pelo produto final, a hemina.** Quando a produção de porfirinas excede a disponibilidade de apoproteínas que delas necessitem, o heme acumula e converte-se em hemina pela oxidação do Fe^{2+} em Fe^{3+} . A hemina diminui a atividade da *ALA-sintase 1* hepática pela redução na síntese da enzima, por meio da inibição da síntese e utilização do RNAm (o heme diminui a estabilidade do RNAm) e pela inibição da importação mitocondrial da enzima. (Nota: nas células eritroides, a *ALAS2* é controlada pela disponibilidade de ferro intracelular.)
 - b. **Efeito de fármacos sobre a atividade da ALA-sintase.** A administração de diversos fármacos resulta no aumento significativo na atividade da *ALA-sintase 1* hepática. Esses fármacos são metabolizados pelo *sistema microsomal citocromo P450-monooxigenase* – um sistema hemoproteína-oxidase encontrado no fígado (veja a p. 149). Em resposta a esses fármacos, a síntese das proteínas citocromo P450 aumenta, levando ao aumento no consumo de heme – componente das proteínas citocromo P450. Isso, por sua vez, causa diminuição na concentração de heme nas células hepáticas. A redução na concentração intracelular de heme leva ao aumento na síntese de *ALAS1* (desrepressão) e promove aumento correspondente na síntese de ALA.
2. **Formação de porfobilinogênio.** A condensação de duas moléculas de ALA para formar porfobilinogênio, catalisada pela *ALA-desidratase (porfobilinogênio-sintase)*, uma enzima que contém zinco, é extremamente sensível à inibição por íons de metais pesados, como, por exemplo, o chumbo, que substitui o zinco (veja a Figura 21.3). Essa inibição é, em parte, responsável pela elevação no ALA e pela anemia observada no envenenamento por chumbo.
 3. **Formação do uroporfirinogênio.** A condensação de quatro moléculas de porfobilinogênio produz um tetrapirrol linear, o hidroximetilbilano, que isomeriza e cicliza sob a ação da *uroporfirinogênio III-sintase*, para formar o uroporfirinogênio III (que é assimétrico). Esse tetrapirrol cíclico sofre descarboxilação de seus grupos acetato, gerando coproporfirinogênio III (Figura 21.4). Essas reações acontecem no citosol.
 4. **Formação do heme.** O coproporfirinogênio III entra na mitocôndria, e duas cadeias laterais de propionato são descarboxiladas em grupos vinila, produzindo protoporfirinogênio IX, que é oxidado até a forma de protoporfirina IX. A introdução de ferro (como Fe^{2+}) na protoporfirina IX ocorre espontaneamente, mas a velocidade é aumentada pela enzima *ferroquelatase* – enzima que, como a *ALA-desidratase*, é inibida pelo chumbo (Figura 21.5).

C. Porfirias

As porfirias são doenças raras, causadas por defeitos herdados (ou eventualmente adquiridos) na síntese do heme, resultando no acúmulo e na excreção aumentada de porfirinas ou de precursores de porfirinas (veja a Figura 21.8). (Nota: com poucas exceções, as porfirias são herdadas na forma de distúrbios autossômicos dominantes.) As mutações que causam as porfirias são heterogêneas (nem todas ocorrem no mesmo sítio no DNA), e praticamente todas as famílias afetadas apresentam suas próprias mutações. Cada porfiria resulta no acúmulo de intermediários em um padrão próprio, causado pela deficiência de uma enzima na via sintética do heme. (Nota: “porfiria” refere-se à coloração púrpura causada por porfirinas [similares a pigmentos] na urina de alguns pacientes com defeitos na síntese do heme.)

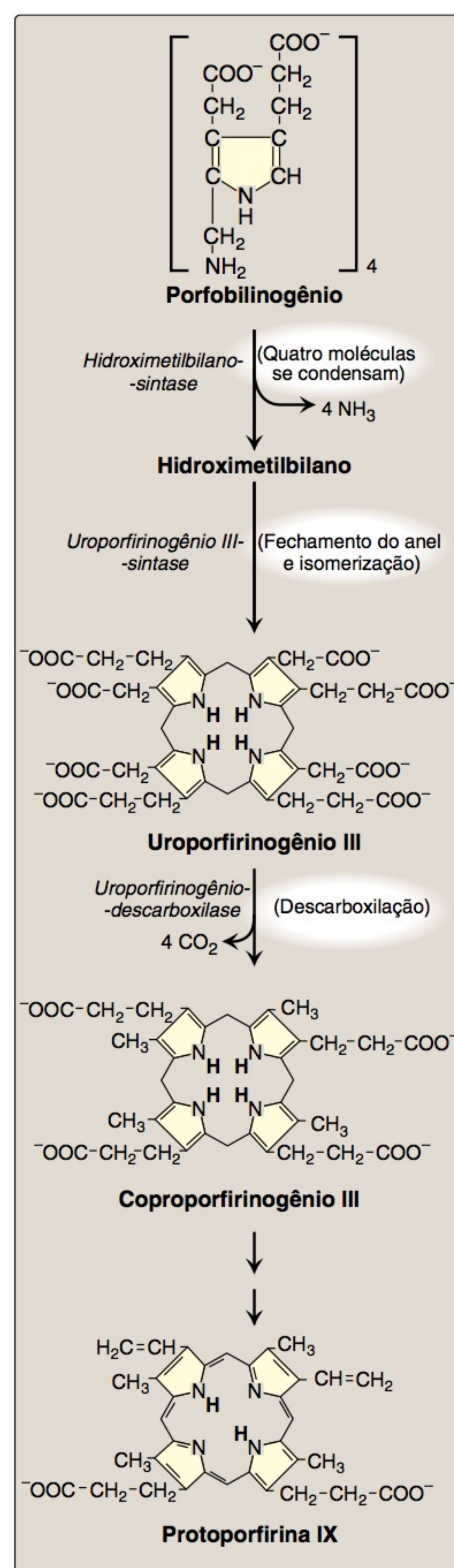
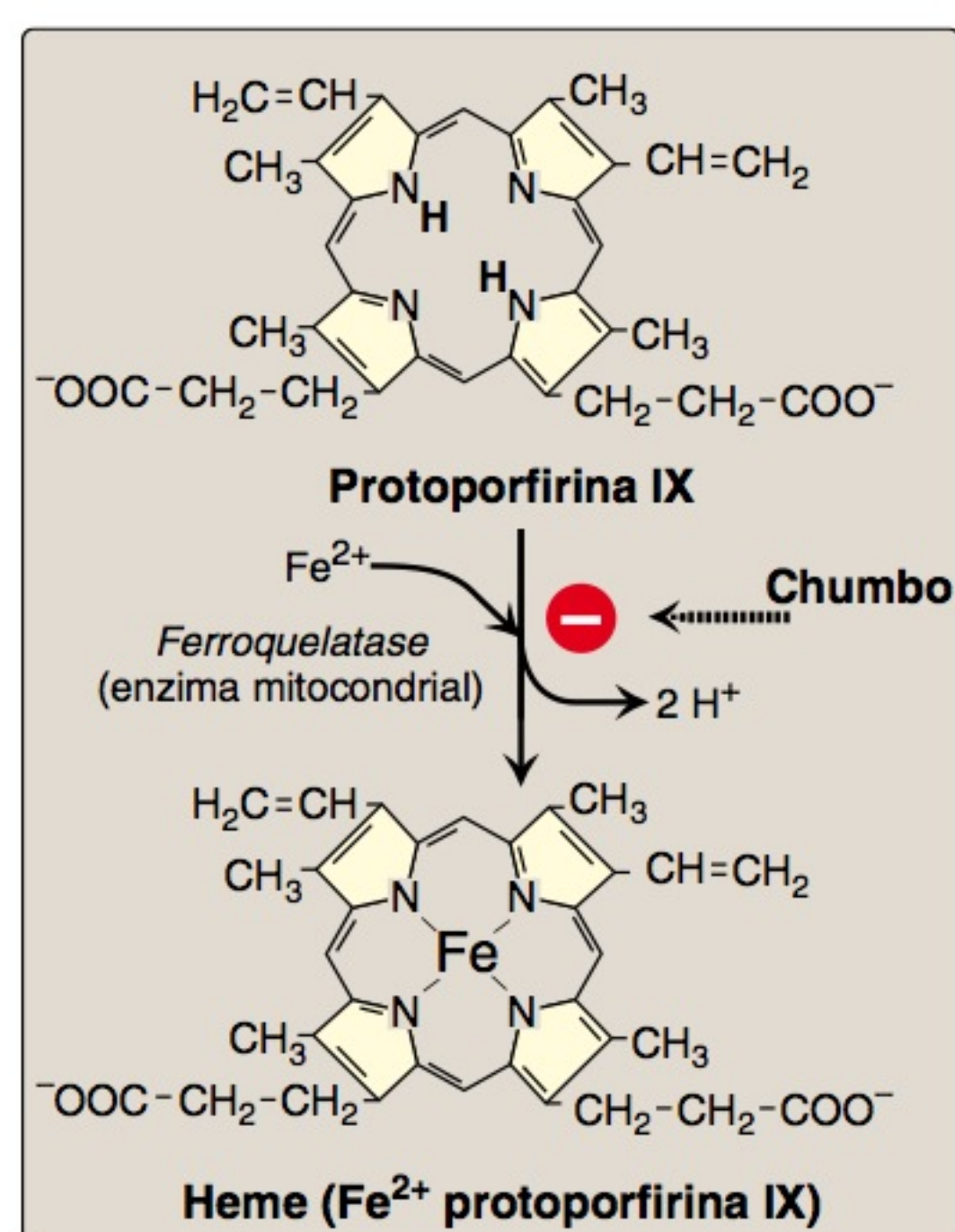


Figura 21.4

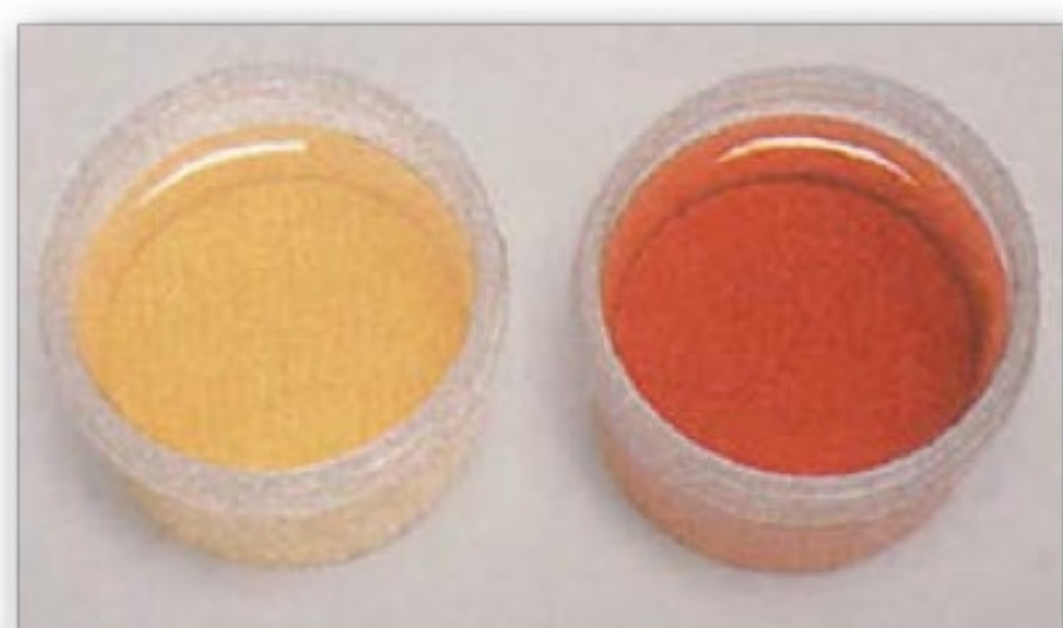
Via de síntese da porfirina: formação de protoporfirina IX. (Continuação da Figura 21.3.)

**Figura 21.5**

Via de síntese da porfirina: formação do heme. (Continuação das Figuras 21.3 e 21.4.)

**Figura 21.6**

Erupções cutâneas em um paciente com porfiria cutânea tardia.

**Figura 21.7**

Urina de um paciente com porfiria cutânea tardia (à direita) e de um paciente com excreção normal de porfirinas (à esquerda).

1. Manifestações clínicas. As porfirias são classificadas como eritropoiéticas ou hepáticas, conforme o local onde acontece a deficiência enzimática (nas células eritropoiéticas da medula óssea ou no fígado). As porfirias hepáticas podem ainda ser classificadas como agudas ou crônicas. Em geral, indivíduos com defeito enzimático em enzima anterior, na via, à síntese de tetrapirróis, apresentam sinais abdominais e neuropsiquiátricos, ao passo que aqueles cujo defeito enzimático leva ao acúmulo de intermediários tetrapirróis apresentam fotossensibilidade – ou seja, sua pele apresenta prurido e sensação de queimação quando exposta à luz visível. (Nota: a fotossensibilidade é resultado da oxidação de porfirinogênios desprovidos de cor, formando porfirinas coloridas, que são moléculas fotossensibilizantes e que acredita-se estarem envolvidas na formação de radicais superóxido a partir do oxigênio. Essas espécies reativas de oxigênio podem danificar oxidativamente as membranas, causando liberação de enzimas degradativas a partir dos lisossomos).

a. Porfiria hepática crônica. A porfiria cutânea tardia, a mais comum das porfirias, é uma doença crônica que atinge o fígado. A doença está associada à deficiência na *uroporfirinogênio-decarboxilase*, mas a expressão clínica da deficiência enzimática é influenciada por vários fatores, como sobrecarga hepática de ferro, exposição à luz solar, ingestão de álcool e presença de hepatite B ou C ou de infecções por HIV. O surgimento clínico ocorre geralmente após os 30 ou 40 anos. O acúmulo de porfirinas causa sintomas cutâneos (Figura 21.6) e mudanças na cor da urina, que fica entre o vermelho e o marrom sob luz natural (Figura 21.7), e entre o rosa e o vermelho sob luz fluorescente.

b. Porfirias hepáticas agudas. As porfirias hepáticas agudas (deficiência de *ALA-desidratase*, porfiria intermitente aguda, coproporfiria hereditária e porfiria variegata) são caracterizadas por ataques agudos de sintomas gastrintestinais, neurológicos/psiquiátricos e motores, que podem estar acompanhados por fotossensibilidade. Porfirias que provocam o acúmulo de ALA e de porfobilinogênio, como a porfiria intermitente aguda, causam dor abdominal e distúrbios neuropsiquiátricos, que vão da ansiedade ao delírio. Os sintomas das porfirias hepáticas agudas são frequentemente desencadeados pela administração de substâncias, como barbitúricos e etanol, que induzem a síntese do sistema microsomal de oxidação de fármacos do citocromo P450, que contém heme. Isso diminui ainda mais a quantidade de heme disponível, o que, por sua vez, promove o aumento na síntese da *ALAS1*.

c. Porfirias eritropoiéticas. As porfirias eritropoiéticas (porfiria eritropoiética congênita e protoporfiria eritropoiética) são caracterizadas por erupções e vesículas na pele, que aparecem no início da infância. Essas doenças são complicadas por cirrose colestática hepática e progressiva insuficiência hepática.

2. Aumento na atividade da ALA-sintase. Uma característica comum das porfirias é a diminuição na síntese do heme. No fígado, o heme funciona normalmente como repressor da *ALA-sintase*. Portanto, a ausência desse produto final resulta no aumento da síntese de *ALAS1*. Assim, a ausência desse produto final resulta no aumento da síntese de *ALA-sintase-1* (desrepressão). Isso leva ao aumento na síntese de intermediários que ocorrem antes do blo-

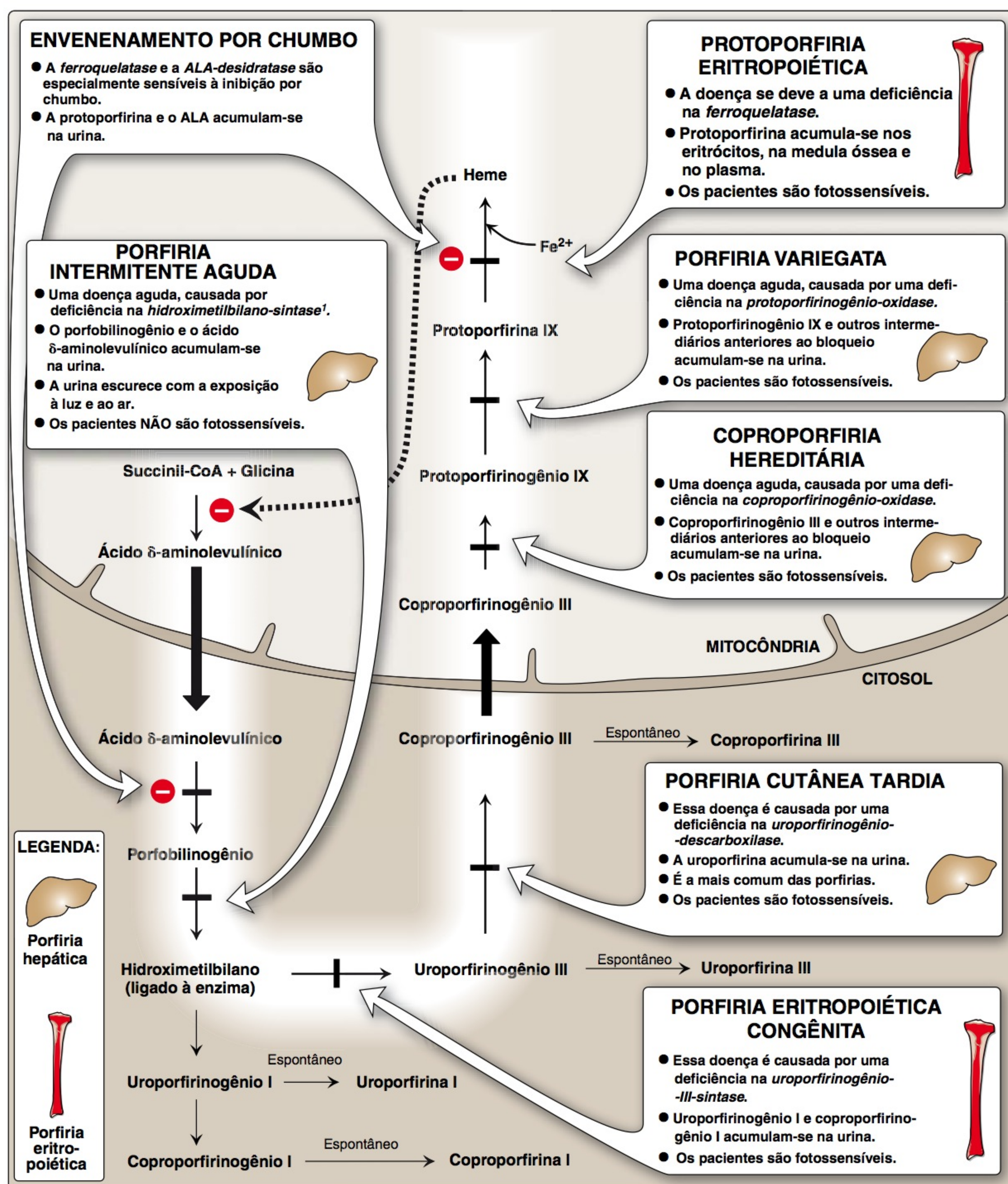


Figura 21.8

 Resumo da síntese do heme. ¹Também denominada *porfobilinogênio desaminase*.

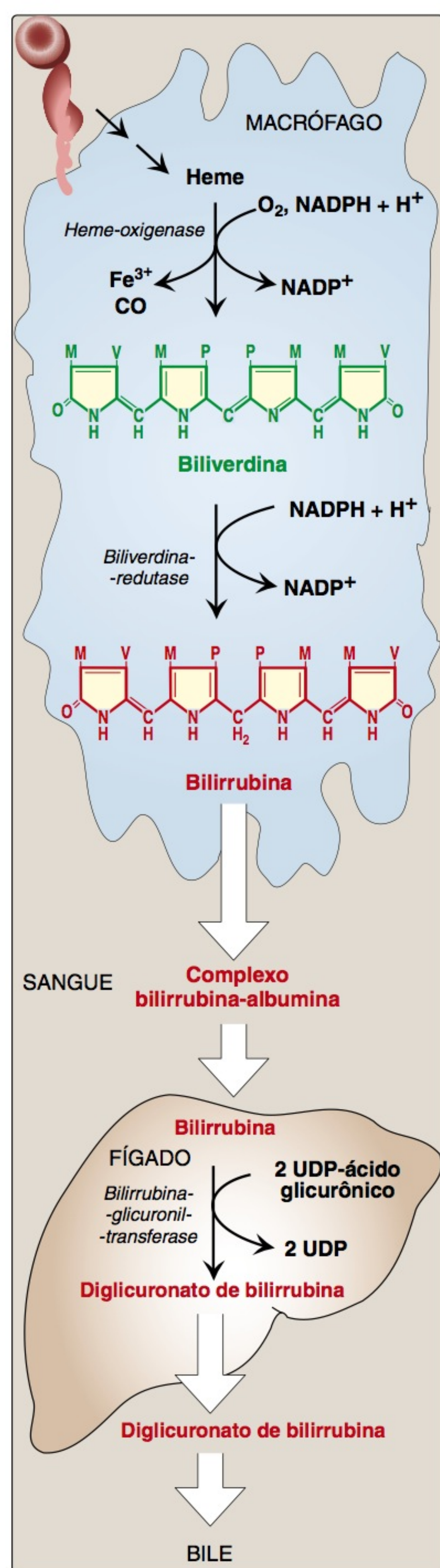


Figura 21.9

Formação de bilirrubina a partir do heme. UDP = difosfato de uridina.

queio genético. O acúmulo desses intermediários tóxicos é a principal fisiopatologia das porfirias.

3. **Tratamento.** Durante ataques agudos de porfiria, o paciente necessita de apoio médico, em especial de tratamento para dor e vômitos. A gravidade dos sintomas das porfirias pode ser reduzida por injeções intravenosas de hemina e de glicose, que diminuem a síntese de *ALAS1*. Evitar a luz solar e ingerir β -caroteno (que reduz radicais livres) também são medidas úteis para a fotossensibilidade.

D. Degradação do heme

Após aproximadamente 120 dias na circulação, os eritrócitos são captados e degradados pelo sistema reticuloendotelial, especialmente no fígado e no baço (Figura 21.9). Cerca de 85% do heme destinado à degradação são provenientes dos eritrócitos já envelhecidos, e 15% provêm da renovação de eritrócitos imaturos e citocromos de tecidos extraeritroides.

1. **Formação de bilirrubina.** O primeiro passo na degradação do heme é catalisado pelo sistema microsomal *heme-oxigenase* das células reticuloendoteliais. Na presença de NADPH e O_2 , a enzima adiciona um grupo hidroxila à ponte metenila, entre dois anéis pirrol, com a concomitante oxidação do íon ferroso a Fe^{3+} . Uma segunda oxidação pelo mesmo sistema enzimático resulta na clivagem do anel da porfirina. O íon férrico e o monóxido de carbono são liberados, gerando um pigmento verde, a biliverdina (veja a Figura 21.9). (Nota: o CO apresenta função biológica, atuando como molécula sinalizadora e como vasodilatador.) A biliverdina é reduzida, formando o composto vermelho-alaranjado bilirrubina. A bilirrubina e seus derivados são coletivamente denominados pigmentos biliares. (Nota: a variação de cores em um hematoma reflete a variação no padrão de intermediários, que ocorre durante a degradação do heme.)

A bilirrubina, molécula exclusiva dos mamíferos, parece funcionar como antioxidante. Nessa função, ela é oxidada até a forma de biliverdina, que é então reduzida pela *biliverdina-redutase*, regenerando a bilirrubina.

2. **Captação da bilirrubina pelo fígado.** A bilirrubina é apenas ligeiramente solúvel no plasma e, portanto, é transportada para o fígado ligada de modo não covalente à albumina. (Nota: certos fármacos aniônicos, como salicilatos e sulfonamidas, podem deslocar a bilirrubina da albumina, permitindo que a bilirrubina penetre no sistema nervoso central. Esse fenômeno é potencial causador de lesão nervosa nos bebês.) A bilirrubina dissocia-se de seu carreador, a molécula de albumina, e entra no hepatócito por difusão facilitada, onde se liga a proteínas intracelulares, especialmente à proteína ligandina.
3. **Formação de diglicuronato de bilirrubina.** No hepatócito, a solubilidade da bilirrubina é aumentada pela adição de duas moléculas de ácido glicurônico. (Nota: esse processo é denominado conjugação.) A reação é catalisada pela *bilirrubina-glicuronil-transferase* microsomal, utilizando difosfato de uridina-ácido glicurônico como doador de glicuronato. (Nota: graus variáveis de deficiência nessa enzima resultam nas síndromes de Crigler-Najjar I e II e de Gilbert; a síndrome de Crigler-Najjar I apresenta a mais grave deficiência.)

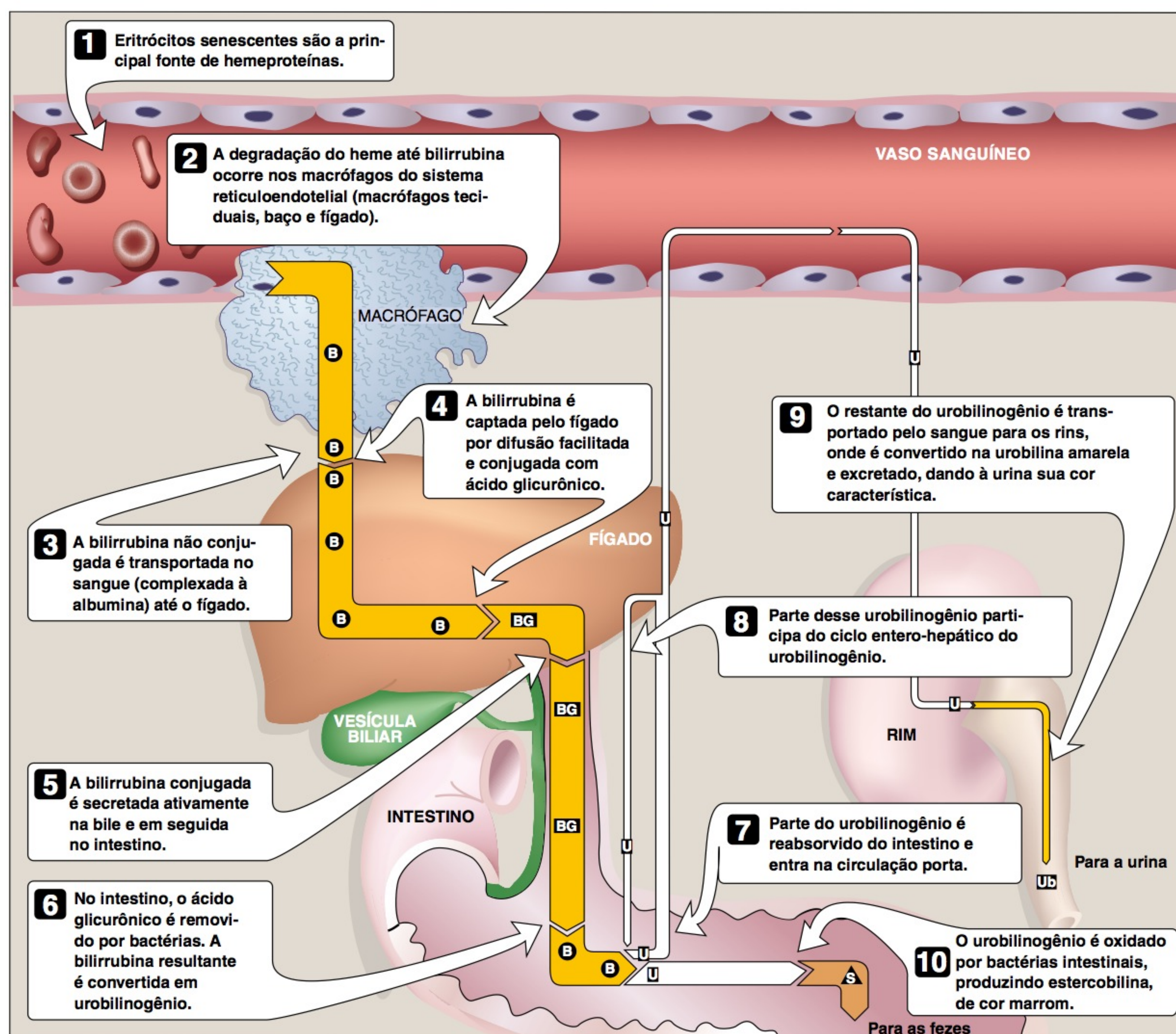


Figura 21.10

Catabolismo do heme **B** = bilirrubina; **BG** = diglicuronato de bilirrubina; **U** = urobilinogênio; **Ub** = urobilina; **Δ** = estercobilina.

- 4. Secreção da bilirrubina para a bile.** O diglicuronato de bilirrubina (bilirrubina conjugada) é transportado ativamente contra um gradiente de concentração para dentro dos canalículos biliares e, a seguir, para a bile. Esse passo dependente de energia é limitante da velocidade e suscetível a prejuízo em casos de doença hepática. (Nota: a deficiência na proteína necessária para o transporte da bilirrubina conjugada para fora do fígado resulta na síndrome de Dubin-Johnson.) A bilirrubina não conjugada via de regra não é secretada.
- 5. Formação de urobilinas no intestino.** O diglicuronato de bilirrubina é hidrolisado e reduzido por bactérias no intestino, produzindo urobilinogênio, um composto incolor. A maior parte do urobilinogênio é oxidada por bactérias intestinais até estercobilina, que dá às fezes sua cor marrom característica. No entanto, parte do urobilinogênio é reabsorvida a partir do intestino e entra no sangue no sistema porta. Uma certa porção desse urobilinogênio participa do ciclo

**Figura 21.11**

Paciente com icterícia, com as escleras dos olhos amarelas.

entero-hepático do urobilinogênio, é captada pelo fígado e então novamente secretada para a bile. A parte restante do urobilinogênio é transportada pelo sangue para o rim, onde é convertida em urobilina amarela e excretada, dando à urina sua cor característica. O metabolismo da bilirrubina está resumido na Figura 21.10.

E. Icterícia

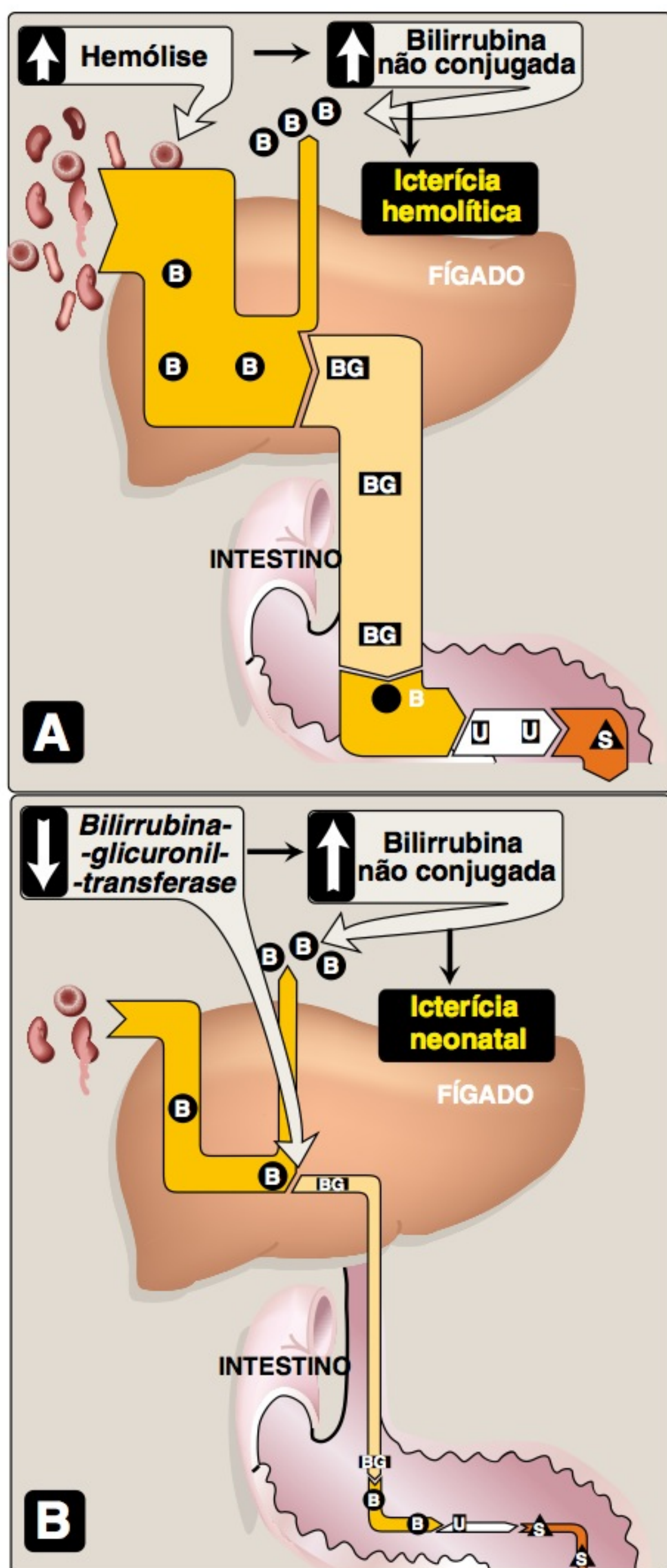
A icterícia refere-se à cor amarelada da pele, do leito ungueal e da esclera (o branco dos olhos) causada pela deposição de bilirrubina nesses tecidos, secundária a um aumento dos níveis de bilirrubina no sangue (hiperbilirrubinemia, Figura 21.11). Embora não seja uma doença, a icterícia é normalmente um sintoma da existência de distúrbio subjacente.

1. **Tipos de icterícia.** A icterícia pode ser classificada em três formas principais, descritas a seguir. No entanto, na prática clínica, a icterícia é frequentemente mais complexa do que o indicado nesta classificação simples. Por exemplo, o acúmulo de bilirrubina pode ser resultado de defeitos em mais de um passo de seu metabolismo.

a. **Icterícia hemolítica.** O fígado possui a capacidade de conjugar e excretar, por dia, mais de 3.000 mg de bilirrubina, ao passo que a produção normal desse composto é de apenas 300 mg/dia. Essa grande capacidade permite que o fígado responda ao aumento na degradação do heme com o aumento correspondente na conjugação e na secreção de diglicuronato de bilirrubina. No entanto, a lise maciça de eritrócitos (p. ex., em pacientes com anemia falciforme, deficiência de *piruvato-cinase* ou de *glicose-6-fosfato-desidrogenase*) pode levar a uma produção de bilirrubina mais rápida do que a capacidade hepática de conjugá-la. Os níveis de bilirrubina não conjugada no sangue tornam-se aumentados, causando a icterícia (Figura 21.12A). (Nota: mais bilirrubina conjugada é excretada na bile, a quantidade de urobilinogênio da circulação entero-hepática aumenta, e o urobilinogênio urinário aumenta.)

b. **Icterícia hepatocelular.** Lesão nos hepatócitos (p. ex., em pacientes com cirrose ou hepatite) pode causar aumento nos níveis sanguíneos de bilirrubina não conjugada, devido a uma redução na conjugação. O urobilinogênio aumenta na urina, pois a lesão hepática diminui a circulação entero-hepática desse composto, permitindo que maior quantidade dele chegue ao sangue, de onde é filtrado para a urina. A urina então torna-se escura, e as fezes apresentam cor de argila clara. Os níveis plasmáticos de *AST (GOT)* e *ALT (GPT)*, veja a p. 251) apresentam-se elevados. (Nota: Se a bilirrubina conjugada não é secretada eficientemente para a bile [colestase intra-hepática], ela difunde ["vaza"] para o sangue, causando uma hiperbilirrubinemia conjugada.)

c. **Icterícia obstrutiva.** Nesse caso, a icterícia não é causada por superprodução de bilirrubina ou por redução na conjugação, mas resulta da obstrução do ducto biliar (colestase extra-hepática). Por exemplo, a presença de tumor hepático ou de cálculos biliares pode causar bloqueio nos ductos biliares, impedindo a passagem da bilirrubina para o intestino. Os pacientes com icterícia obstrutiva apresentam dor gastrointestinal e náusea e produzem fezes claras, cor de argila, e urina que

**Figura 21.12**

Alterações no metabolismo do heme. A. Icterícia hemolítica. B. Icterícia neonatal. BG = diglicuronato de bilirrubina; B = bilirrubina; U = urobilinogênio; S = estercobilina.

escurece ao ser deixada em repouso. O fígado “regurgita” a bilirrubina conjugada para o sangue (hiperbilirrubinemia). Esse composto é por fim excretado na urina. Há ausência de urobilinogênio urinário. (Nota: a obstrução prolongada do ducto biliar pode levar à lesão hepática, com subsequente aumento na bilirrubina não conjugada.)

2. **Icterícia em recém-nascidos.** Bebês recém-nascidos, em especial bebês prematuros, frequentemente acumulam bilirrubina, pois a atividade da *bilirrubina-glicuronil-transferase* hepática é baixa ao nascimento – ela alcança níveis semelhantes aos adultos em cerca de quatro semanas (Figuras 21.12B e 21.13). A bilirrubina elevada acima da capacidade de ligação da albumina pode difundir para os núcleos da base e causar encefalopatia tóxica (*kernicterus*). Desse modo, recém-nascidos com níveis de bilirrubina significativamente elevados são tratados com luz fluorescente azul (Figura 21.14), que converte a bilirrubina em isômeros mais polares e, portanto, mais solúveis em água. Esses fotoisômeros podem ser excretados na bile sem estar conjugados ao ácido glicurônico.
3. **Determinação da concentração de bilirrubina.** A bilirrubina é em geral determinada pela reação de van den Bergh, em que o ácido sulfanílico diazotado reage com a bilirrubina formando azodipirróis vermelhos, medidos colorimetricamente. Em solução aquosa, a bilirrubina conjugada solúvel em água reage prontamente com esse composto (dentro de um minuto) e é chamada “reagente direta”. A bilirrubina não conjugada, muito menos solúvel em solução aquosa, reage mais lentamente. No entanto, quando a reação é realizada em metanol, tanto a conjugada quanto a não conjugada são solúveis e reagem com aquele composto, fornecendo o valor da bilirrubina total. A bilirrubina “reagente indireta”, que corresponde à bilirrubina não conjugada, é obtida subtraindo-se a bilirrubina reagente direta da bilirrubina total. (Nota: no plasma normal, a bilirrubina conjugada, ou reagente direta, perfaz apenas cerca de 4% da bilirrubina total, pois a maior parte dela é secretada para a bile.)

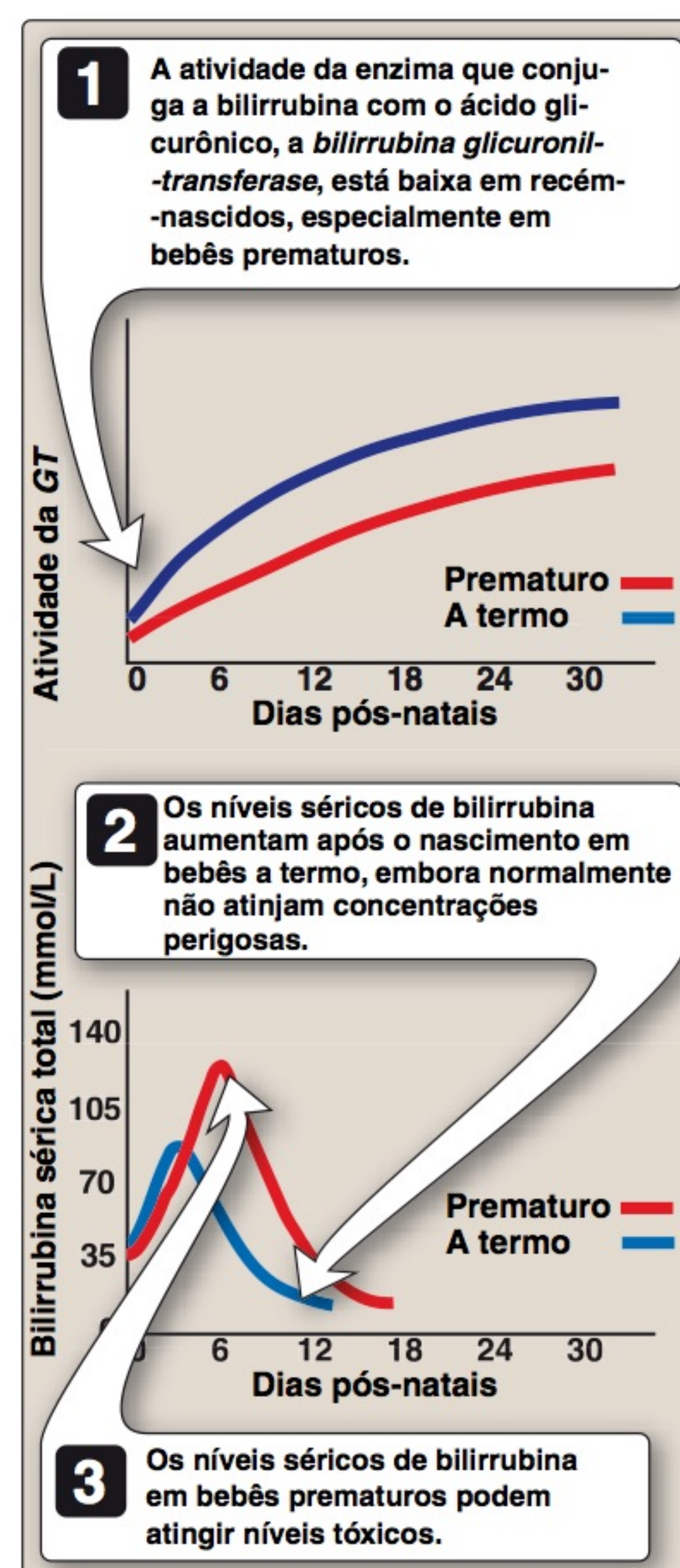


Figura 21.13

Icterícia neonatal. GT = *Glicuronil-transferase*.

III. OUTROS COMPOSTOS NITROGENADOS

A. Catecolaminas

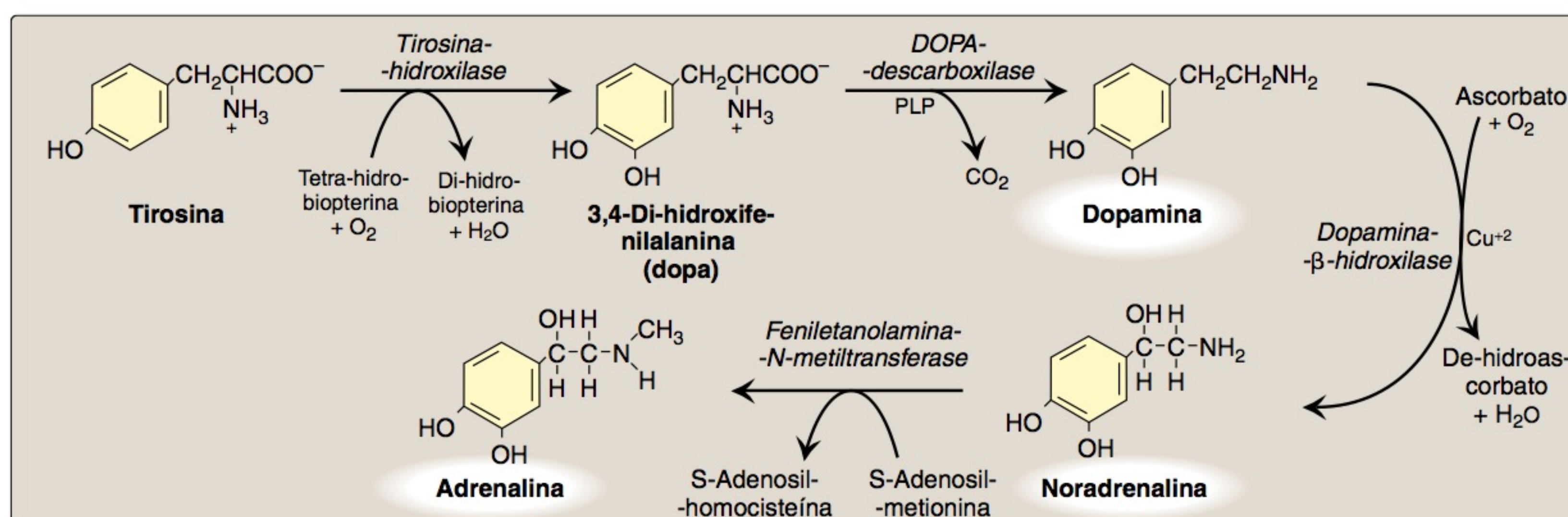
Dopamina, noradrenalina e adrenalina (epinefrina) são aminas biologicamente ativas (biogênicas), denominadas coletivamente catecolaminas. A dopamina e a noradrenalina funcionam como neurotransmissores no encéfalo. A noradrenalina e a adrenalina também são sintetizadas pela medula adrenal.

1. **Funções.** Fora do sistema nervoso, a noradrenalina e sua derivada metilada, a adrenalina, atuam como reguladoras do metabolismo dos carboidratos e dos lipídeos. A noradrenalina e a adrenalina são liberadas de vesículas de armazenamento na medula da adrenal em resposta ao medo, ao exercício, ao frio e a baixos níveis de glicose sanguínea. Elas aumentam a degradação do glicogênio e de triacilgliceróis, assim como determinam o aumento na pressão sanguínea e no débito cardíaco. Esses efeitos são parte de uma resposta coordenada para preparar o indivíduo para o estresse e são frequentemente referidos como reações de “luta ou fuga”.
2. **Síntese das catecolaminas.** As catecolaminas são sintetizadas a partir da tirosina, como mostrado na Figura 21.15. A tirosina é inicial-



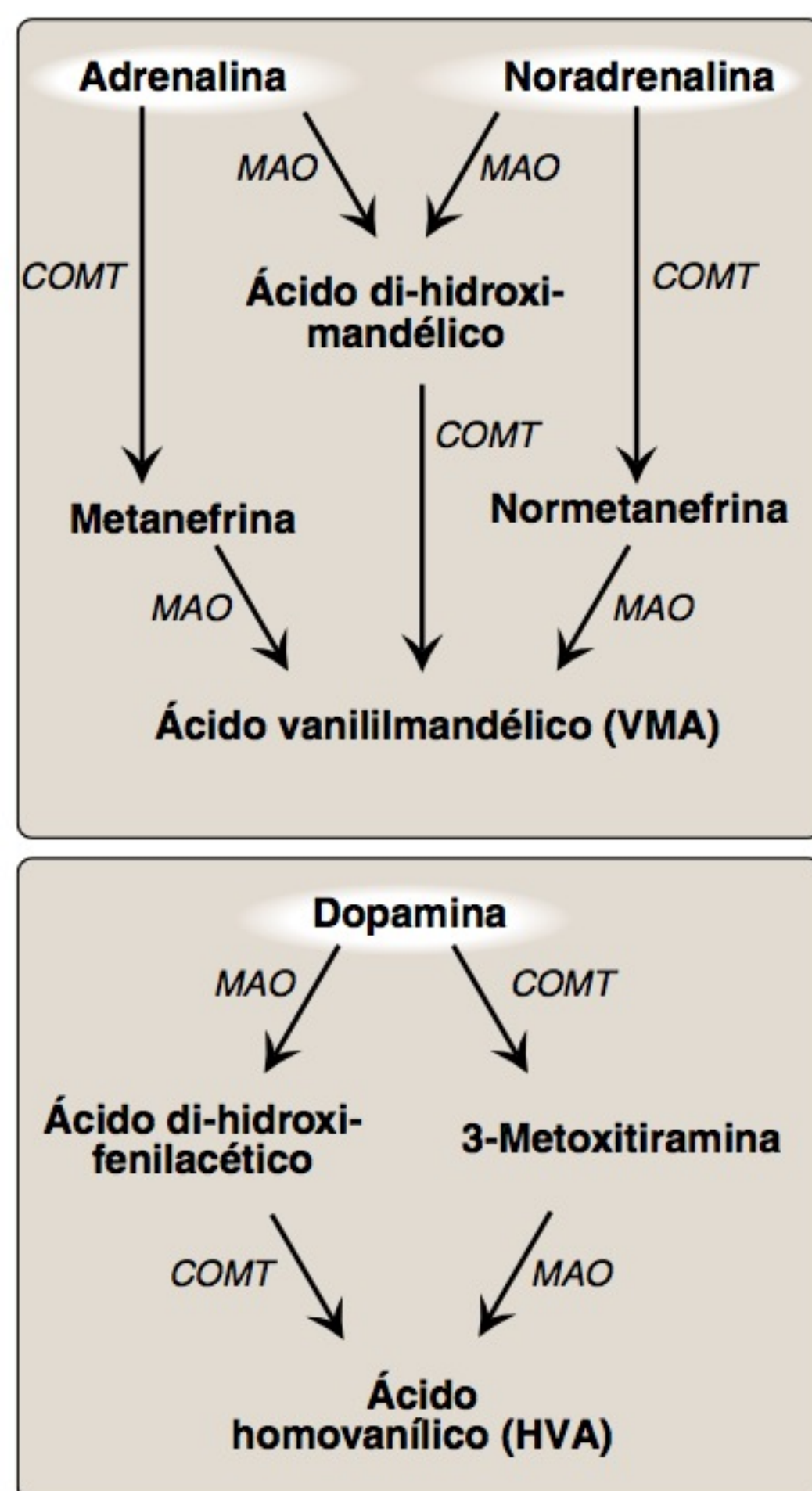
Figura 21.14

Fototerapia na ictérica neonatal.

**Figura 21.15**

Síntese das catecolaminas.

mente hidroxilada pela *tirosina-hidroxilase*, formando 3,4-di-hidroxi-fenilalanina (DOPA), em uma reação análoga àquela descrita para a hidroxilação da fenilalanina (veja a p. 268). A enzima requer tetra-hidrobiopterina (BH_4) e é abundante no sistema nervoso central, nos gânglios simpáticos e na medula adrenal. É a etapa limitante da velocidade dessa via. O DOPA é descarboxilado em uma reação que demanda piridoxal-fosfato (PLP, veja a p. 378) para formar dopamina, que por sua vez é hidroxilada pela enzima *dopamina-β-hidroxilase*, produzindo noradrenalina, em uma reação que requer ascorbato (vitamina C) e cobre. A adrenalina é formada a partir da noradrenalina por meio de uma reação de N-metilação, utilizando S-adenosilmetionina (SAM) como doador da metila (veja a p. 264).

**Figura 21.16**

Metabolismo das catecolaminas pela *catecol-O-metiltransferase* (COMT) e pela *monoaminoxidase* (MAO).

A Doença de Parkinson, um distúrbio neurodegenerativo do movimento, deve-se à produção insuficiente de dopamina, resultante da perda idiopática de células produtoras de dopamina no encéfalo. A administração de L-DOPA (levodopa) é o tratamento mais comum.

- Degradação das catecolaminas.** As catecolaminas são inativadas por desaminação oxidativa catalisada pela *monoaminoxidase* (MAO) e por O-metilação, catalisada pela *catecol-O-metiltransferase* (COMT), usando SAM como doador da metila (Figura 21.16). As duas reações podem ocorrer em qualquer sequência. Os produtos aldeídicos da reação da MAO são oxidados a seus ácidos correspondentes. Os produtos metabólicos dessas reações são excretados na urina como ácido vanililmandélico (VMA), produzido a partir da adrenalina e da noradrenalina, e ácido homovanílico, produzido a partir da dopamina. (Nota: o VMA aumenta em casos de feocromocitomas, tumores da adrenal caracterizados pela produção excessiva de catecolaminas.)
- Inibidores da monoaminoxidase.** A MAO é encontrada em tecidos neurais e em outros tecidos, como o intestino e o fígado. No neurônio, essa enzima desamina oxidativamente e inativa qualquer excesso de moléculas de neurotransmissor (noradrenalina, dopamina ou serotonina) que possa vaziar das vesículas sinápticas quando

o neurônio está em repouso. Os inibidores da *MAO* podem inativar irreversível ou reversivelmente a enzima, permitindo que moléculas do neurotransmissor escapem à degradação e, assim, essas moléculas acumulam-se dentro do neurônio pré-sináptico e vazam para o espaço sináptico. Isso causa ativação de receptores noradrenérgicos e serotoninérgicos e pode ser o mecanismo responsável pela ação antidepressiva desses fármacos.

B. Histamina

A histamina é um mensageiro químico que medeia um amplo espectro de respostas celulares, incluindo as reações alérgicas e inflamatórias, a secreção gástrica de ácido e, possivelmente, a neurotransmissão em algumas regiões do encéfalo. A histamina, um poderoso vasodilatador, é formada pela descarboxilação da histidina em uma reação que requer piridoxal-fosfato (Figura 21.17). Ela é secretada por mastócitos, como resultado de reações alérgicas ou trauma. A histamina não apresenta aplicações clínicas, mas agentes que interferem com a ação da histamina possuem aplicações terapêuticas importantes.

C. Serotonina

A serotonina, também denominada 5-hidroxitriptamina (5HT), é sintetizada e armazenada em diversos sítios no organismo (Figura 21.18). As maiores quantidades de serotonina são encontradas nas células da mucosa intestinal. Menores quantidades podem ser observadas no sistema nervoso central, onde funciona como neurotransmissor, e em plaquetas. A serotonina é sintetizada a partir do triptofano, hidroxilado em uma reação que requer BH_4 , análoga àquela catalisada pela *fenilalanina-hidroxilase*. O produto, o 5-hidroxitriptofano, é descarboxilado, produzindo serotonina, também degradada pela *MAO*. A serotonina possui múltiplos papéis fisiológicos, incluindo papéis na percepção da dor, na regulação do sono, do apetite, da temperatura e da pressão sanguínea, além de funções cognitivas e do humor (causa uma sensação de bem-estar). (Nota: a serotonina é convertida em melatonina por acetilação e metilação, na glândula pineal.)

D. Creatina

A creatina-fosfato (também chamada fosfocreatina) é o derivado fosforilado da creatina encontrada no músculo. É um composto de alta energia, que fornece uma reserva pequena mas rapidamente mobilizável de fosfatos de alta energia, os quais podem ser transferidos reversivelmente ao difosfato de adenosina, formando ATP (Figura 21.19), a fim de manter os níveis deste composto durante os primeiros minutos de contração muscular intensa. (Nota: a quantidade de fosfocreatina corporal é proporcional à quantidade de massa muscular.)

- Síntese.** A creatina é sintetizada a partir da glicina e do grupo guanidino da arginina, mais um grupo metila da SAM (veja a Figura 21.19). A creatina é fosforilada reversivelmente pela *creatina-cinase*, utilizando ATP como doador de fosfato e produzindo fosfocreatina. (Nota: a presença de *creatina-cinase* (isozima MB) no plasma é um indicativo de lesão cardíaca, utilizado no diagnóstico do infarto do miocárdio [veja na p. 65].)
- Degradação.** A creatina e a fosfocreatina ciclizam espontaneamente, em velocidade lenta mas constante, produzindo a creatinina, excretada na urina. A quantidade de creatinina excretada é proporcional ao conteúdo total de creatina-fosfato no organismo. Pode, por-

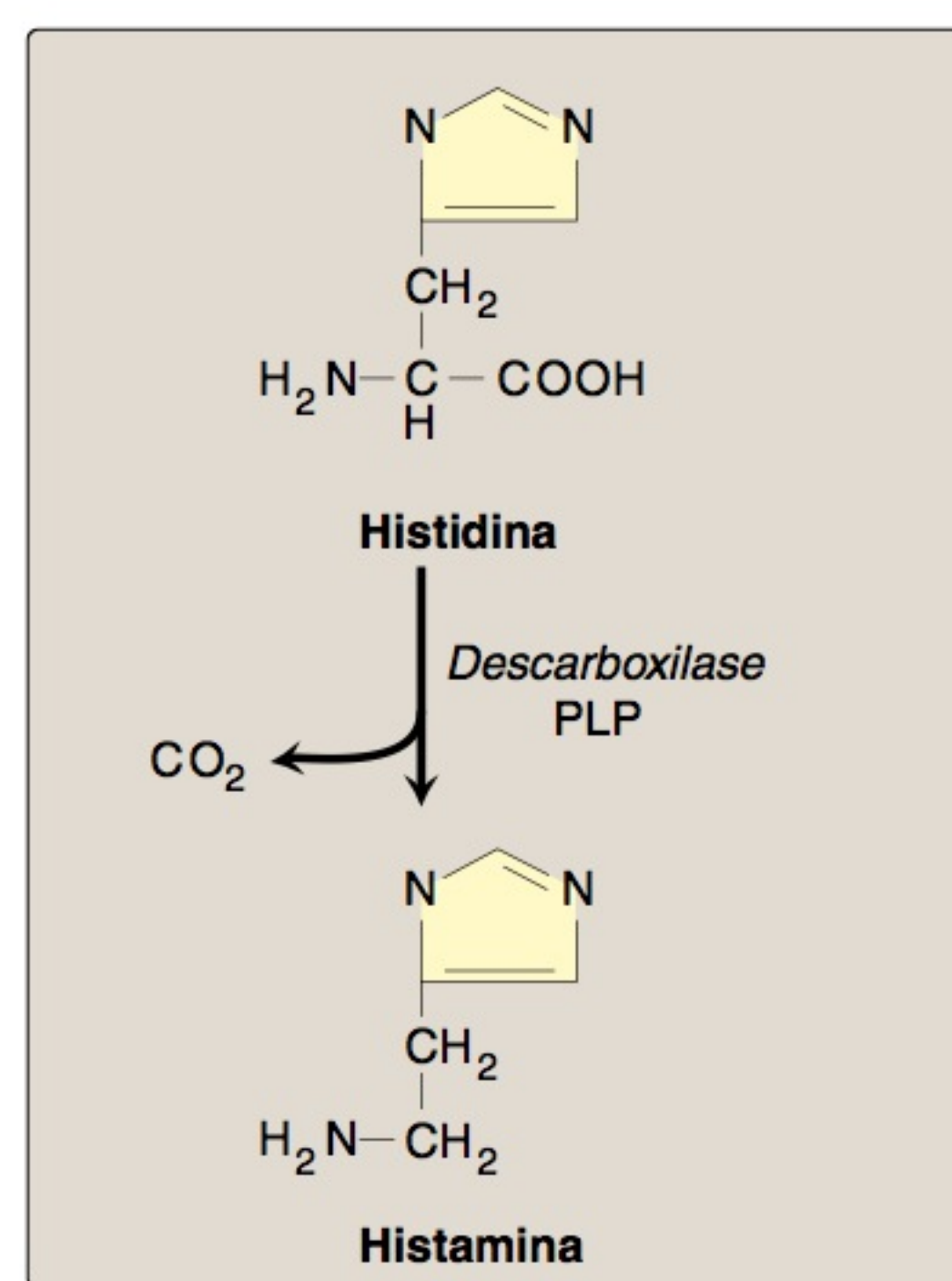


Figura 21.17

Biossíntese da histamina. PLP = piridoxal-fosfato.

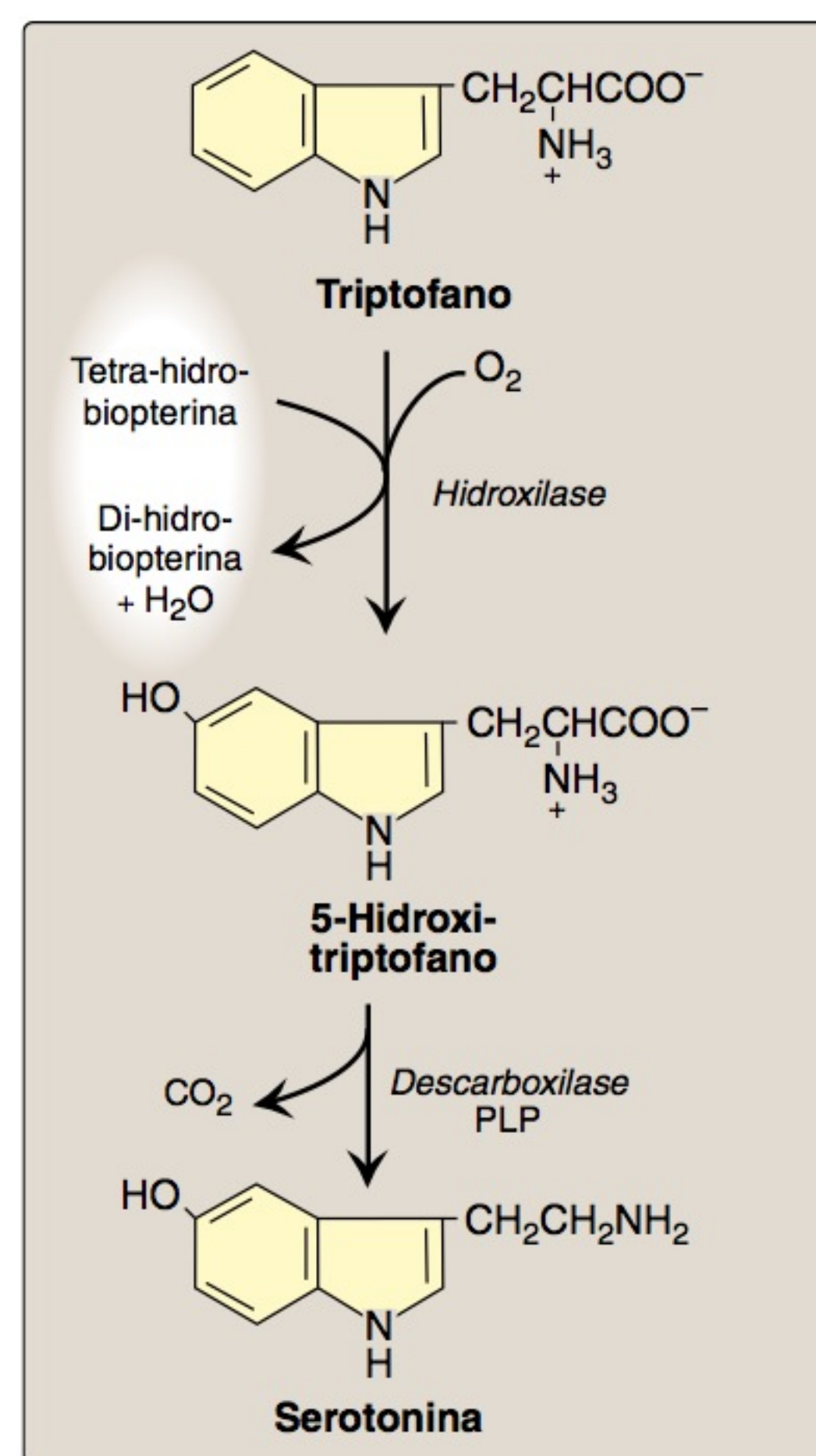


Figura 21.18

Síntese da serotonina.

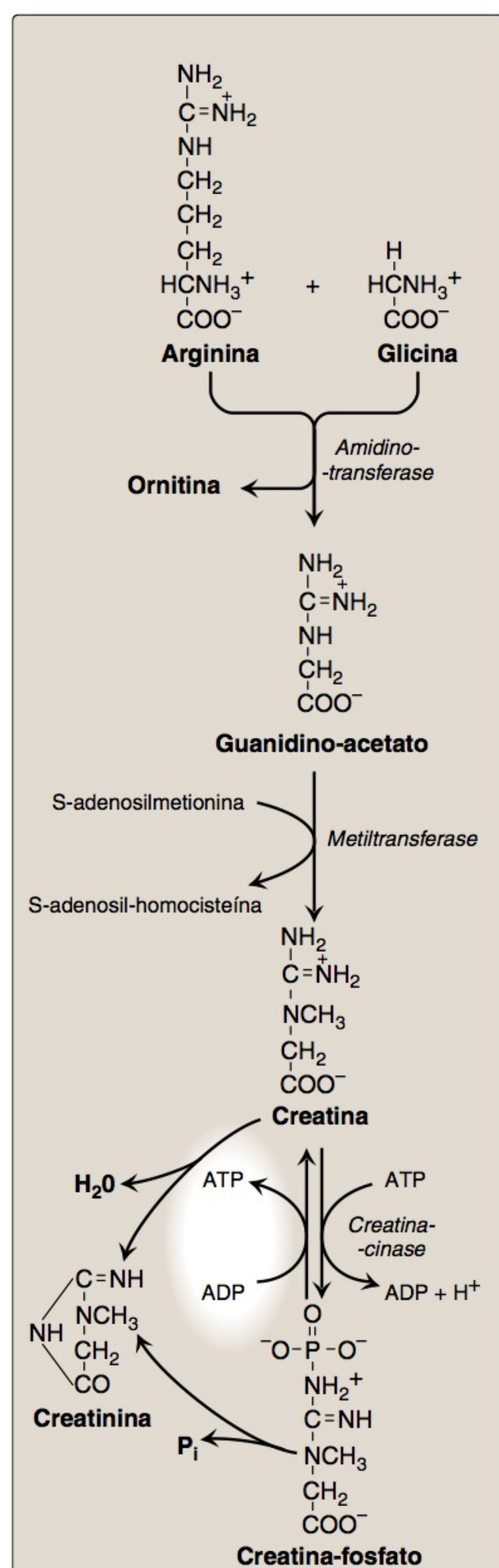


Figura 21.19

Síntese da creatina.

tanto, ser utilizada para estimar a massa muscular. Quando a massa muscular diminui por alguma razão (p. ex., paralisia ou distrofia muscular), o conteúdo de creatinina na urina diminui. Além disso, qualquer aumento na creatinina sanguínea é indicador sensível de prejuízo na função renal, pois normalmente a creatinina é rapidamente removida do sangue e excretada. Um adulto do sexo masculino excreta, tipicamente, cerca de 15 mmol de creatinina por dia.

E. Melanina

A melanina é um pigmento encontrado em diversos tecidos no organismo, em especial nos olhos, nos cabelos e na pele. É sintetizada na epiderme a partir de tirosina, por células formadoras de pigmento denominadas melanócitos. Sua função é proteger as células subjacentes dos efeitos danosos da luz solar. (Nota: uma falha na produção de melanina resulta no albinismo, e a forma mais comum dessa doença deve-se a defeitos na *tirosinase*, enzima que contém cobre [veja a p. 273].)

IV. RESUMO DO CAPÍTULO

Os aminoácidos são precursores de muitos compostos nitrogenados, incluindo as **porfirinas**, que em combinação com o íon ferroso (Fe²⁺), formam o **heme** (Figura 21.20). Os principais sítios de **biossíntese do heme** são o **fígado**, que sintetiza diversas hemoproteínas (em especial o citocromo P450), e as **células produtoras de eritrócitos** da medula óssea, ativas na síntese de hemoglobina. No fígado, a velocidade de síntese do heme é altamente variável, respondendo a alterações nas concentrações celulares de heme, causadas por demandas flutuantes por hemoproteínas. Em contraste, a síntese de heme nas células eritroides é relativamente constante e está ajustada à velocidade de síntese de globina. A **síntese de porfirinas** inicia com **glicina** e **succinil-CoA**. O **passo comprometido**, na síntese do heme, é a formação de ácido δ-aminolevulínico (ALA). Essa reação é catalisada, no fígado, pela **ALA-sintase-1, que é inibida por hemina** (a forma oxidada do heme, que se acumula na célula quando este estiver sendo subutilizado), e pela ALA-sintase-2 (regulada pelo ferro) nos tecidos eritroides. As **porfirias** são causadas por defeitos herdados ou adquiridos na síntese de heme, resultando no acúmulo e na excreção aumentada de porfirinas ou de precursores de porfirinas. Com poucas exceções, as **porfirias** são herdas como doenças **autossômicas dominantes**. A **degradação** das hemoproteínas ocorre no **sistema reticuloendotelial**, especialmente no **fígado** e no **baço**. O primeiro passo na degradação do heme é a produção de um pigmento verde, a **biliverdina**, subsequentemente reduzida a **bilirrubina**. A bilirrubina é transportada ao fígado, onde sua solubilidade é aumentada pela adição de duas moléculas de **ácido glicurônico**. O diglicuronato de bilirrubina é transportado para os **canalículos biliares**, onde é inicialmente hidrolisado e reduzido por bactérias no intestino, produzindo **urobilinogênio**, e então oxidado pelas bactérias intestinais até a forma de **estercobilina**. A **icterícia** refere-se à cor amarela da pele e da esclera, causada pela deposição de bilirrubina, secundária a um aumento dos níveis de bilirrubina no sangue. Três tipos comumente encontrados de icterícia são a **icterícia hemolítica**, a **icterícia obstrutiva** e a **icterícia hepatocelular**. Outros compostos nitrogenados importantes, derivados dos aminoácidos, incluem as **catecolaminas** (dopamina, noradrenalina e adrenalina), a **creatina**, a **histamina**, a **serotonina** e a **melanina**.

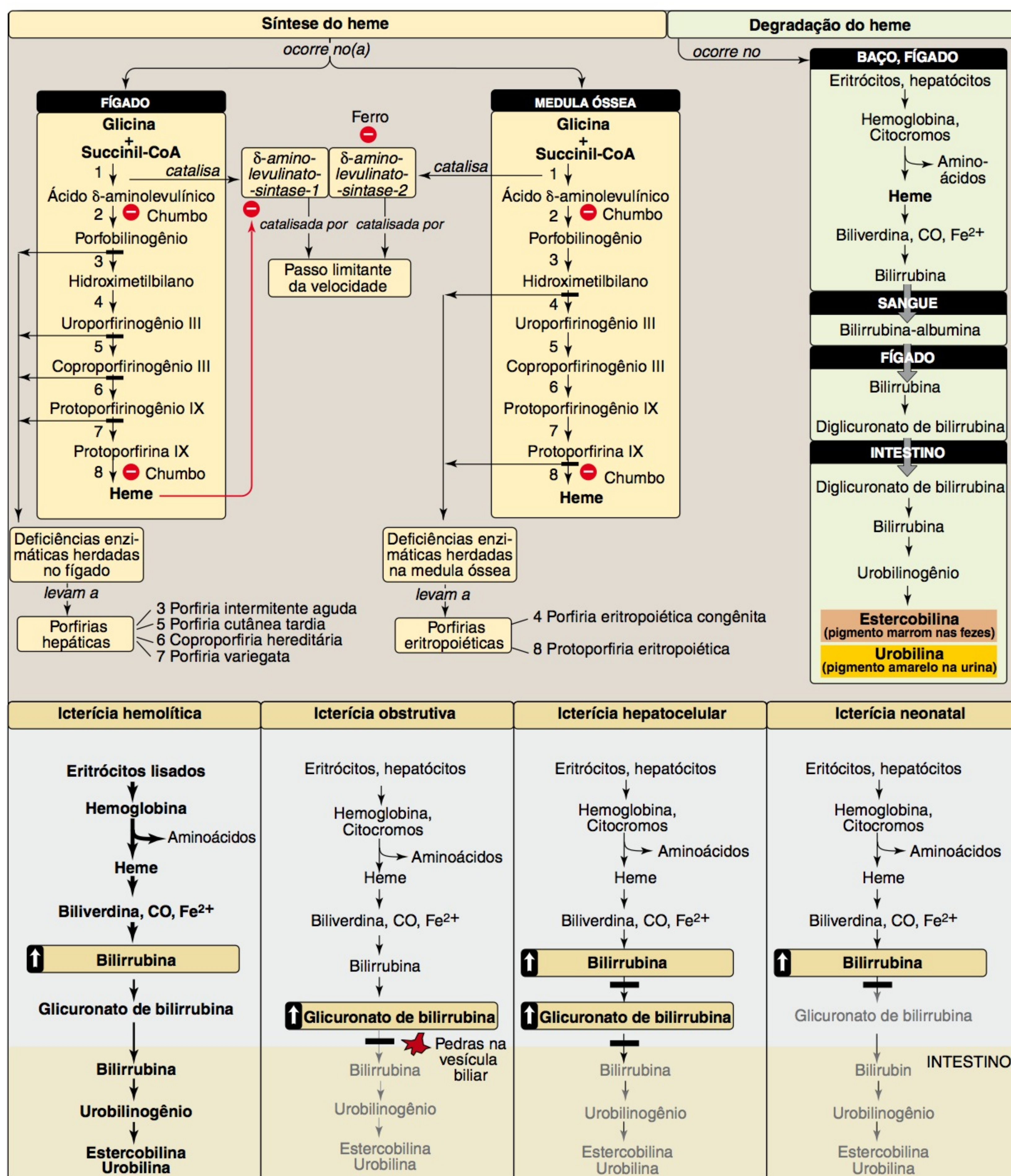


Figura 21.20

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo do heme. — = Bloqueio na via.

Questões para estudo

Escolha uma ÚNICA melhor resposta.

21.1 A atividade da δ -aminolevulinato-sintase:

- A. está frequentemente diminuída no fígado de indivíduos tratados com certos fármacos, como o barbitúrico fenobarbital.
- B. catalisa uma reação determinante da velocidade na biossíntese das porfirinas.
- C. requer a coenzima biotina.
- D. é fortemente inibida por íons de metais pesados, como o chumbo.
- E. ocorre no citosol.

Resposta correta = B. A atividade da δ -aminolevulinato-sintase controla a velocidade da síntese das porfirinas. A forma hepática da enzima está aumentada em pacientes tratados com certos fármacos e requer piridoxal-fosfato como coenzima. Uma outra enzima da via (δ -aminolevulinato-desidratase) é extremamente sensível à presença de metais pesados.

21.2 O catabolismo da hemoglobina:

- A. ocorre nos eritrócitos.
- B. envolve a clivagem oxidativa do anel porfirínico.
- C. resulta na liberação de dióxido de carbono.
- D. resulta na formação de protoporfirinogênio.
- E. é a única fonte de bilirrubina.

Resposta correta = B. A molécula cíclica do heme é clivada oxidativamente para formar biliverdina. O catabolismo ocorre nas células do sistema retículoendotelial, especialmente no baço, e resulta na liberação de monóxido de carbono. O protoporfirinogênio é um intermediário na síntese, não na degradação do heme. Outras hemoproteínas distintas da hemoglobina, como os citocromos, também são precursores da bilirrubina.

21.3 Um homem de 50 anos apresentava bolhas dolorosas no dorso das mãos. Ele era instrutor de golfe e relatou que as bolhas erupcionaram logo após o início da estação de golfe. Não foi exposto recentemente a sumagre ou a heras venenosas, não utilizou recentemente novos sabonetes ou detergentes nem novos medicamentos. Negou ter tido episódios prévios com ocorrência de erupções. O paciente apresentava distúrbio convulsivo parcial complexo, que começou cerca de três anos antes, após uma concussão no crânio. O paciente estava utilizando fenitoína – sua única medicação – desde o início do distúrbio convulsivo. Admitiu ter um consumo semanal médio de etanol de cerca de 18 latas de cerveja de 350 mL. A urina do paciente apresentou-se laranja-avermelhada. Culturas obtidas das lesões da pele não mostraram crescimento de microrganismos. Urina de 24 horas mostrou aumento na uroporfirina (1.000 mg; normal, < 27 mg). O presumível diagnóstico é mais provavelmente:

Resposta correta = A. A doença está associada a uma deficiência na uroporfirinogênio-descarboxilase, mas a expressão clínica da deficiência enzimática é influenciada por dano hepático causado por sobrecarga de ferro, consumo crônico de etanol, presença de hepatite B ou C e infecção por HIV. Exposição à luz solar pode também ser um fator precipitante. O início clínico ocorre tipicamente durante a quarta ou quinta década de vida. O acúmulo de porfina leva a sintomas cutâneos e a urina torna-se de vermelha a marrom. O tratamento do distúrbio convulsivo do paciente com fenitoína causou um aumento na síntese de ALA-sintase e, portanto, de uroporfirinogênio, o substrato da enzima deficiente. Achados laboratoriais e clínicos são inconsistentes com outras porfirias.

- A. porfiria cutânea tardia.
- B. porfiria intermitente aguda.
- C. coproporfiria hereditária;
- D. porfiria eritropoiética congênita.
- E. protoporfiria eritropoiética.

21.4 Um menino de dez anos de idade é encaminhado a especialistas devido à erupção frequente de bolhas na pele, urina que escurece ao ser deixada em repouso e dentes manchados. Os exames laboratoriais chamaram a atenção para altos níveis plasmáticos de uroporfirina I e coproporfirina I, com uroporfirina I presente na urina. A patologia bioquímica mais provável neste caso é:

Resposta correta = C. Uma deficiência de uroporfirinogênio III-sintase resulta em acúmulo de hidroximetilbilano e na conversão espontânea desse substrato em porfirinas da série Tipo I. Uma deficiência de ALA-sintase ou a inibição da ALA-desidratase por chumbo não permitiria a síntese de porfobilinogênio, o primeiro produto pirrólico na rota biossintética do heme e, assim, não resultaria na síntese de uro ou coproporfirinas. Deficiência da glicuroniltransferase não apresentaria os sintomas descritos, e os estudos laboratoriais não seriam marcantes para um aumento de bilirrubina não conjugada. A regulação por inibição da tirosinase causaria uma redução da pigmentação.

- A. Deficiência de ALA sintase.
- B. Deficiência de bilirrubina glicuronil-transferase.
- C. Deficiência de uroporfirinogênio III-sintase.
- D. Redução da atividade da tirosinase.
- E. Inibição da ALA-desidratase por chumbo.

Metabolismo dos Nucleotídeos

I. VISÃO GERAL

Os ribonucleosídeos e os desoxirribonucleosídeos fosfatados (nucleotídeos) são essenciais para todas as células. Sem eles, o DNA e o RNA não poderiam ser produzidos e, dessa forma, as proteínas não poderiam ser sintetizadas e nem as células poderiam proliferar. Os nucleotídeos também servem como carreadores de intermediários ativados na síntese de alguns carboidratos, lipídeos e proteínas conjugadas, como por exemplo, UDP-glicose e CDP-colina, e são componentes estruturais de várias coenzimas essenciais, como a coenzima A, o FAD, o NAD^+ e o NADP^+ . Nucleotídeos, como o monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) e o monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), são utilizados como segundos mensageiros em vias de transdução de sinais. Além disso, os nucleotídeos desempenham um papel importante como “moedas” de energia na célula. Finalmente, os nucleotídeos são importantes compostos reguladores para muitas das rotas do metabolismo intermediário, inibindo ou ativando enzimas-chave. As bases púricas e pirimídicas encontradas nos nucleotídeos podem ser sintetizadas *de novo* ou podem ser obtidas por vias de salvação, que permitem a reutilização das bases pré-formadas resultantes do metabolismo normal da célula. (Nota: apenas uma pequena parte das purinas e pirimidinas supridas pela dieta são utilizadas, o restante é degradado.)

II. ESTRUTURA DOS NUCLEOTÍDEOS

Os nucleotídeos são compostos por uma base nitrogenada, um monossacárido (uma pentose) e um, dois ou três grupos fosfato. As bases nitrogenadas que fazem parte dos nucleotídeos pertencem a duas famílias de compostos: as purinas e as pirimidinas.

A. Estrutura das purinas e das pirimidinas

Tanto o DNA como o RNA contêm as mesmas bases púricas: adenina (A) e guanina (G). Ambos contêm a pirimidina citosina (C), mas diferem

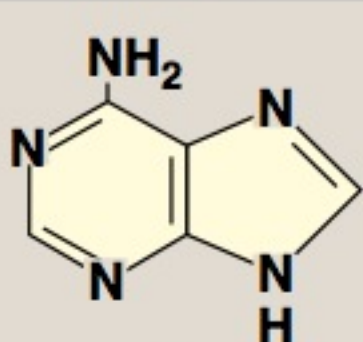
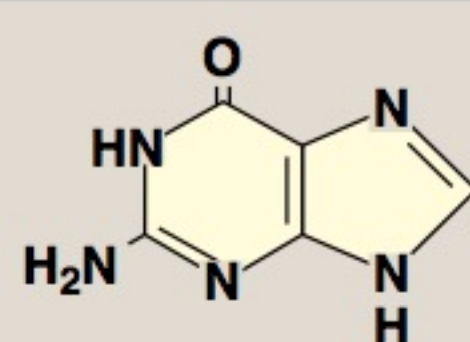
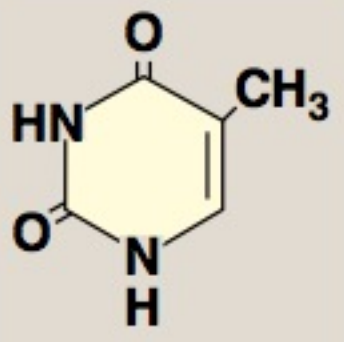
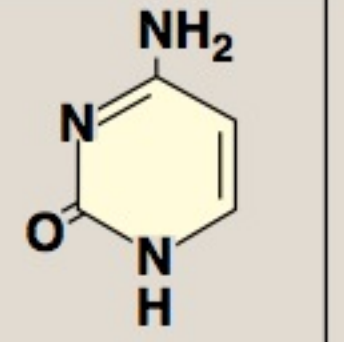
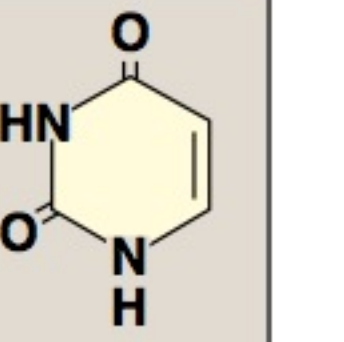
Purinas presentes no DNA e no RNA		
		
Adenina (A)	Guanina (G)	
Pirimidinas presentes no RNA		
		
Timina (T)	Citosina (C)	Uracila (U)
Pirimidinas presentes no DNA		

Figura 22.1

Purinas e pirimidinas comumente encontradas no DNA e no RNA.

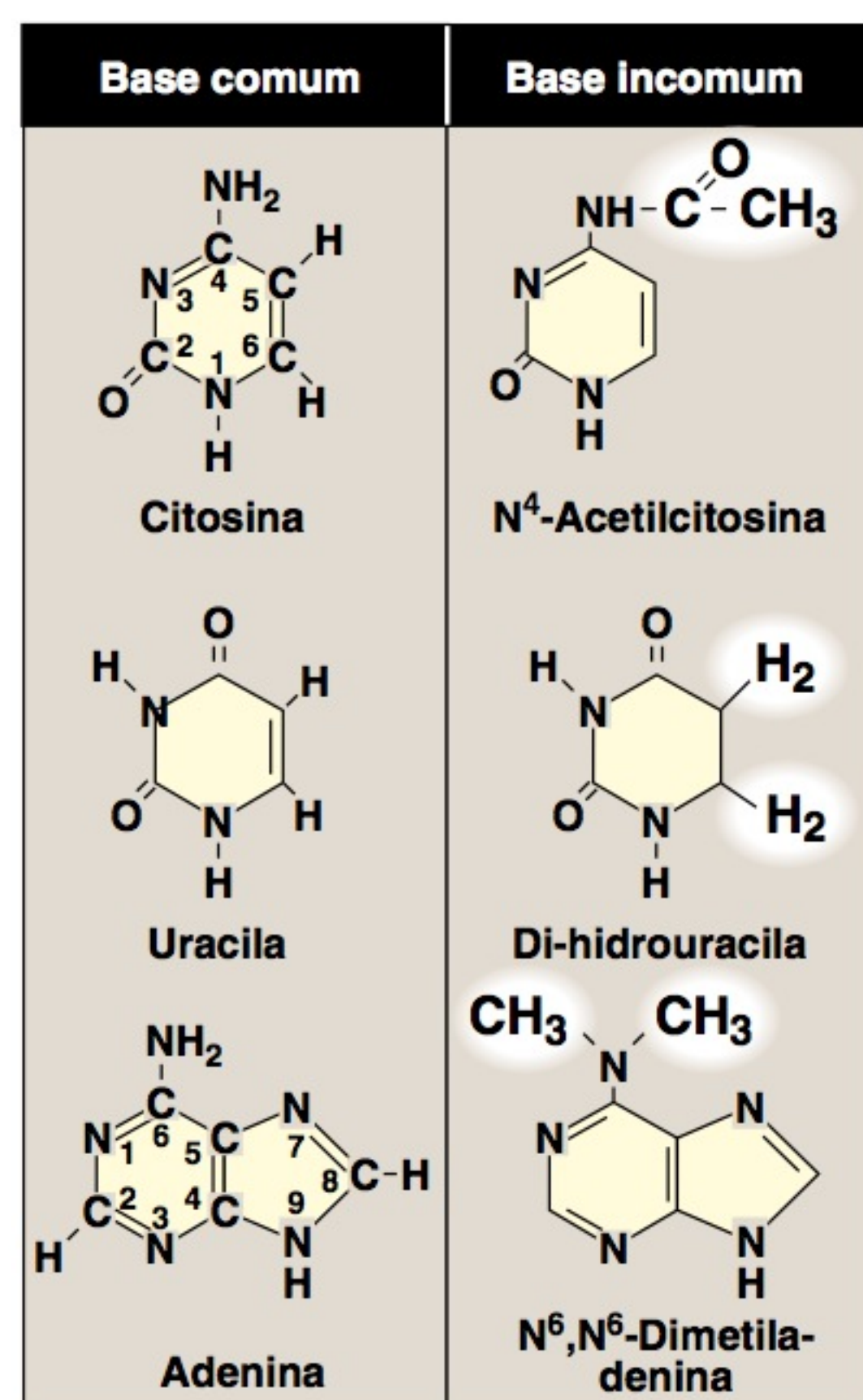


Figura 22.2

Exemplos de bases incomuns.

em sua segunda base pirimídica: o DNA contém timina (T), ao passo que o RNA contém uracila (U). T e U diferem apenas por um grupo metila, presente em T, mas ausente em U (Figura 22.1). (Nota: bases incomuns, modificadas, são encontradas ocasionalmente em algumas espécies de DNA e RNA, como por exemplo, em alguns DNA virais e no RNA transportador. As modificações que podem ocorrer nas bases incluem metilação, glicosilação, acetilação ou redução. A Figura 22.2 mostra alguns exemplos de bases incomuns. A presença de uma base incomum em uma sequência de nucleotídeos pode auxiliar no seu reconhecimento por enzimas específicas ou protegê-la da degradação por *nucleases*.)

B. Nucleosídeos

A adição de um açúcar do tipo pentose a uma base produz um nucleosídeo. Se o açúcar for a ribose, é produzido um ribonucleosídeo; se o açúcar for a 2-desoxirribose, é produzido um desoxirribonucleosídeo (Figura 22.3A). Os ribonucleosídeos de A, G, C e U são denominados adenosina, guanossina, citidina e uridina, respectivamente. Os desoxirribonucleosídeos de A, G, C e T recebem a adição do prefixo “desoxi-”, como, por exemplo, desoxiadenosina. (Nota: o composto desoxitimidina é frequentemente chamado de timidina, ficando o prefixo “desoxi” subentendido.) Os átomos de carbono e nitrogênio nos anéis da base e do açúcar são numerados separadamente (Figura 22.3B). Observe que os átomos de carbono na pentose são numerados de 1' a 5'. Assim, quando alguém se refere ao carbono 5' de um nucleosídeo (ou nucleotídeo), está especificando um átomo de carbono presente na pentose e não na base.

C. Nucleotídeos

Um nucleotídeo é produzido pela adição de um ou mais grupos fosfato a um nucleosídeo. O primeiro grupo fosfato é ligado por uma ligação éster à hidroxila 5' da pentose. Tal composto é chamado de nucleosídeo 5'-fosfato ou 5'-nucleotídeo. O tipo de pentose é designado pela adição de um prefixo aos nomes, como por exemplo “5'-ribonucleotídeo” e “5'-desoxirribonucleotídeo”. Se um grupo fosfato é ligado ao carbono 5' da pentose, a estrutura resultante é um nucleosídeo monofosfato, como o monofosfato de adenosina (AMP) (também chamado de adenilato). Se um segundo ou terceiro fosfato forem adicionados ao nucleosídeo, isso resulta na formação de um nucleosídeo difosfato (p. ex., difosfato de adenosina, ADP) ou trifosfato (p. ex., trifosfato de adenosina, ATP) (Figura 22.4). O segundo e o terceiro fosfatos são ligados ao nucleotídeo por uma ligação de “alta energia”. (Nota: os grupos fosfato são responsáveis pelas cargas negativas associadas aos nucleotídeos e também são o motivo pelo qual o DNA e o RNA são referidos como “ácidos nucleicos”.)

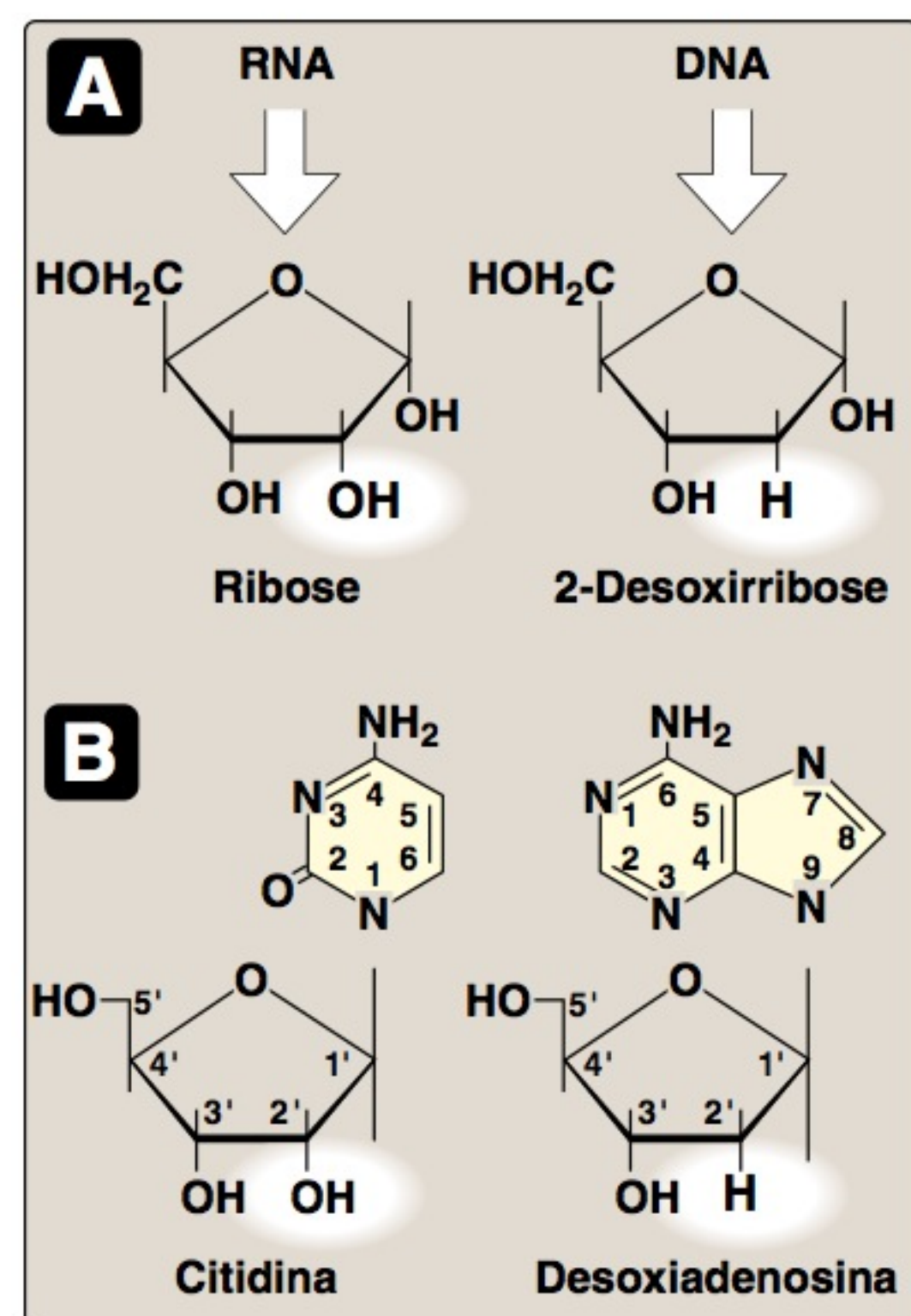


Figura 22.3

A. Pentoses encontradas nos ácidos nucleicos. B. Exemplos dos sistemas de numeração para nucleosídeos contendo purinas e pirimidinas.

III. SÍNTESE DOS NUCLEOTÍDEOS PÚRICOS

Os átomos do anel de purina originam-se de diversos compostos, que incluem aminoácidos (ácido aspártico, glicina e glutamina), CO₂ e N¹⁰-formiltetra-hidrofolato (Figura 22.5). O anel da purina é formado principalmente no fígado, por uma série de reações em que os carbonos e nitrogênios doados são adicionados a uma ribose-5-fosfato pré-formada. (Veja a p. 147 para uma discussão a respeito da síntese da ribose-5-fosfato através da via das pentoses-fosfato.)

A. Síntese de 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP)

O PRPP é uma “pentose ativada” que participa nas vias de síntese e de salvação das purinas e pirimidinas. A síntese do PRPP a partir do ATP

e da ribose-5-fosfato é catalisada pela *PRPP-sintetase* (ribose-fosfato-pirofosfocinase, Figura 22.6). Essa enzima, cujo gene está presente no cromossomo X, é ativada por fosfato inorgânico e inibida pelos nucleotídeos púricos (inibição pelo produto final). (Nota: a molécula de açúcar do PRPP é a ribose e, portanto, os ribonucleotídeos são os produtos finais da síntese *de novo* das purinas. Quando há necessidade de desoxirribonucleotídeos para a síntese de DNA, a molécula de ribose é reduzida [veja a p. 297].)

B. Síntese de 5'-fosforribosilamina

A síntese de 5'-fosforribosilamina a partir de PRPP e glutamina é mostrada na Figura 22.7. O grupo amida da glutamina substitui o grupo pirofosfato ligado ao carbono 1 do PRPP. A enzima, *glutamina:fosforribosilpirofosfato amidotransferase*, é inibida pelos 5'-nucleotídeos púricos AMP e GMP – produtos finais da rota. Esse é o passo regulador da velocidade na biossíntese dos nucleotídeos púricos. A velocidade da reação é também controlada pela concentração intracelular de PRPP. (Nota: a concentração intracelular de PRPP situa-se, normalmente, bem abaixo do K_m para a *amidotransferase*. Assim, mesmo uma pequena variação na concentração de PRPP causa uma mudança proporcional na velocidade da reação [veja a p. 59].)

C. Síntese de monofosfato de inosina, o nucleotídeo púrico “progenitor”

Os próximos nove passos na biossíntese dos nucleotídeos púricos que levam à síntese de monofosfato de inosina (IMP, cuja base é a hipoxantina) estão ilustrados na Figura 22.7. Essa rota necessita de ATP como fonte de energia. Duas etapas dessa via requerem N^{10} -formiltetraidrofolato (veja a p. 267).

D. Inibidores sintéticos da síntese das purinas

Alguns inibidores sintéticos da síntese de purinas (p. ex., as sulfonamidas¹) são planejados para inibir o crescimento de microrganismos em divisão rápida, sem interferir com as funções celulares humanas (veja a Figura 22.7). Outros inibidores da síntese de purinas, como os análogos estruturais do ácido fólico (p. ex., metotrexato²), são usados farmacologicamente para controlar a proliferação do câncer, pois interferem na síntese de nucleotídeos e, dessa forma, na síntese de DNA e RNA (veja a Figura 22.7).

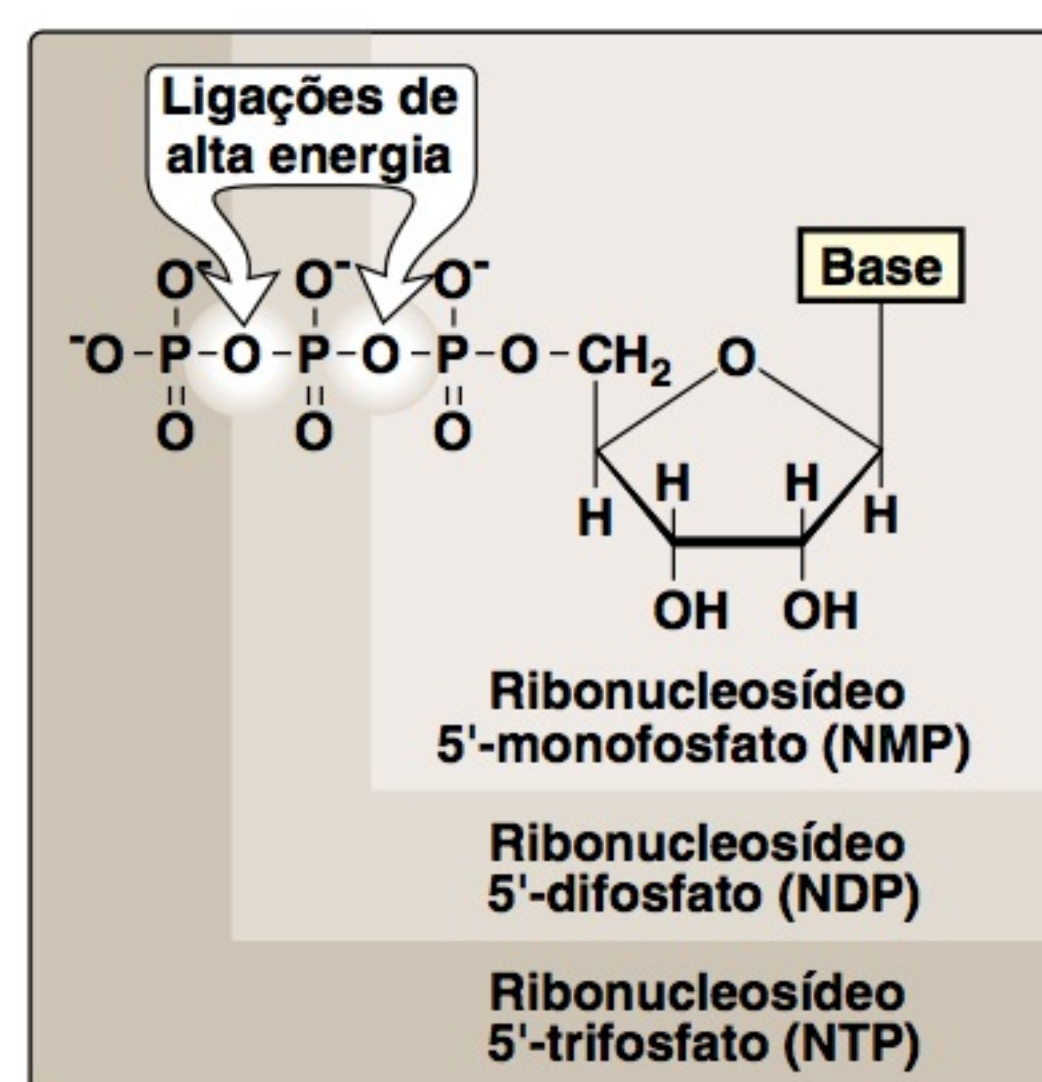


Figura 22.4

Ribonucleosídeos monofosfato, difosfato e trifosfato.

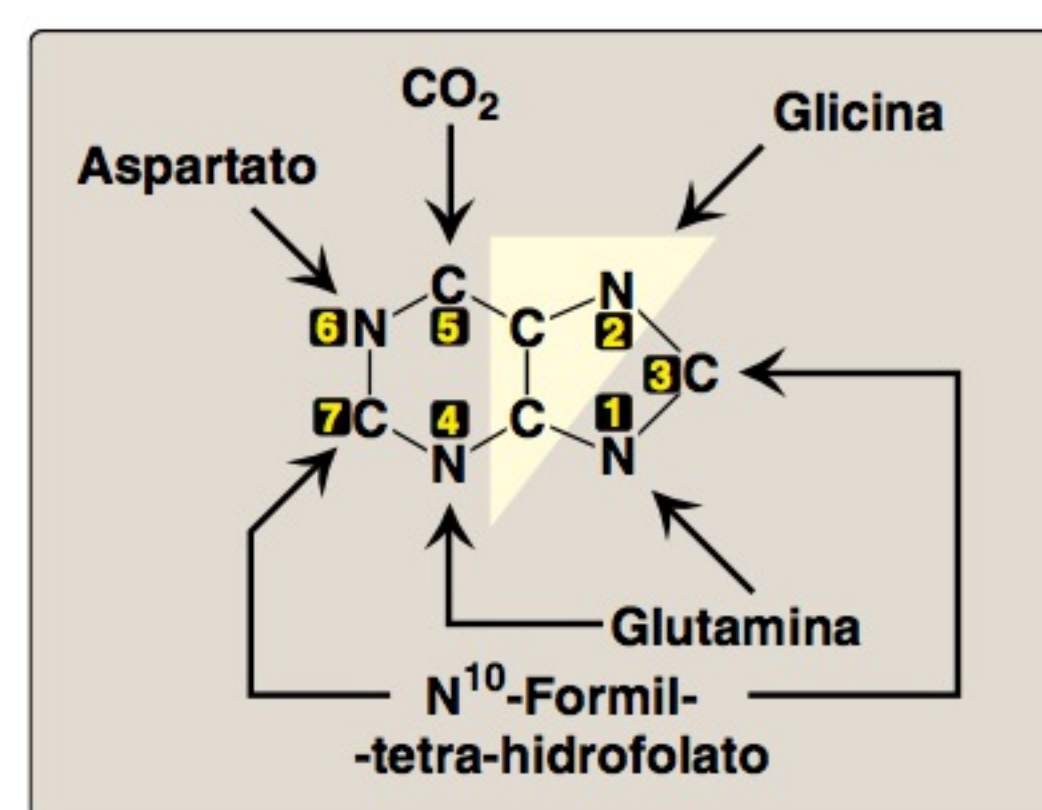


Figura 22.5

Fontes de cada átomo no anel de purina. A ordem em que os átomos são adicionados é mostrada pelos números nos quadrados pretos (veja a Figura 22.7).

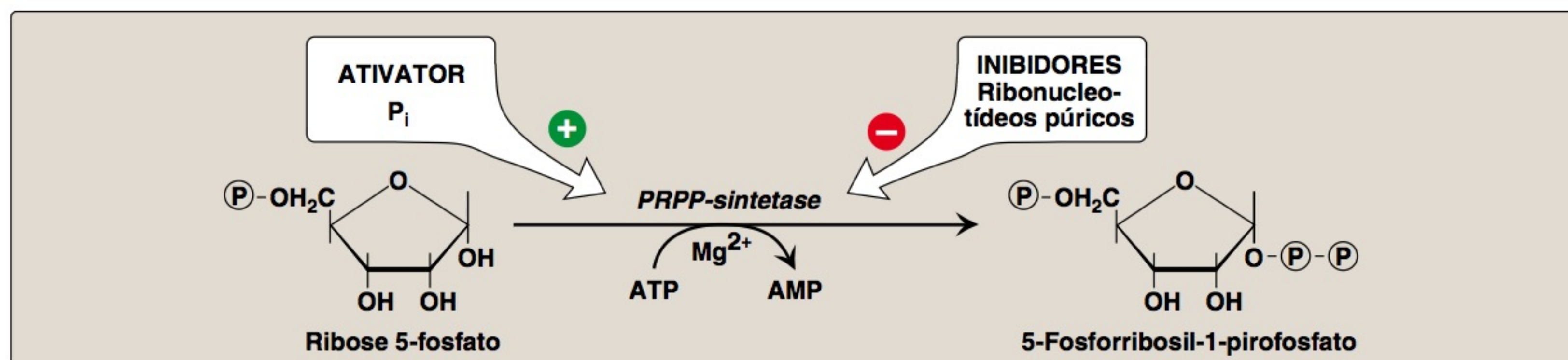
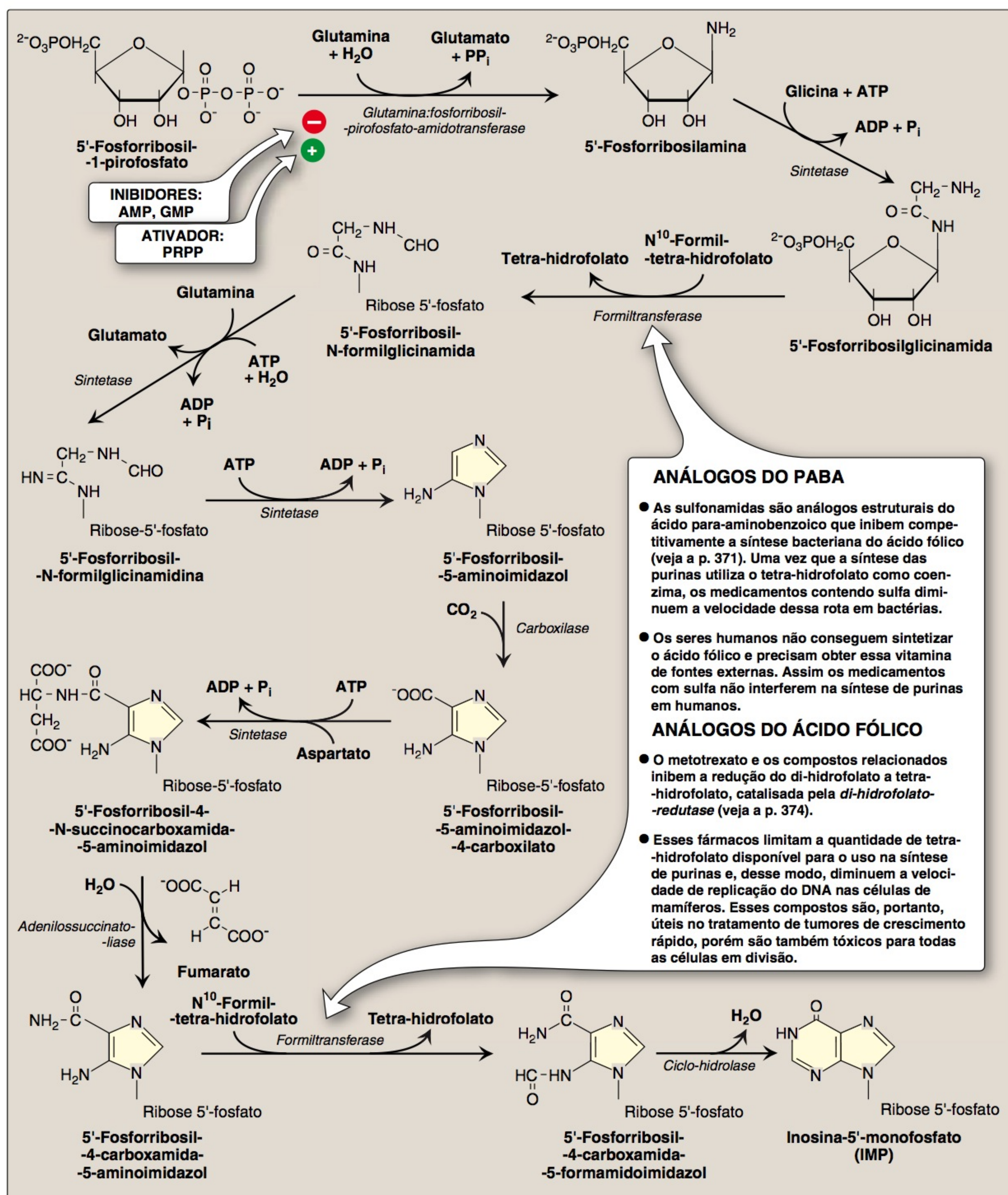


Figura 22.6

Síntese do 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), mostrando o ativador e os inibidores da reação.



^{1, 2} Veja o Capítulo 33 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca das sulfonamidas e do metotrexato.

**Figura 22.7**

Síntese dos nucleotídeos púricos, mostrando o efeito inibitório de alguns análogos estruturais.

Os inibidores da síntese de purinas são extremamente tóxicos para os tecidos humanos, em especial para estruturas em desenvolvimento, como as do feto, ou para tipos celulares que normalmente replicam-se rapidamente, incluindo a medula óssea, a pele, o trato gastrointestinal (GI), o sistema imunológico, ou os folículos capilares. Como resultado, indivíduos sob medicação com tais fármacos anticâncer podem experimentar efeitos adversos, como anemia, descamação da pele, distúrbios do trato GI, imunodeficiência e perda de cabelo.

E. Conversão do IMP em AMP e GMP

A conversão de IMP em AMP ou GMP ocorre em duas etapas, numa via dependente de energia (Figura 22.8). Observe que a síntese de AMP é dependente de trifosfato de guanosina (GTP) como fonte de energia, ao passo que a síntese de GMP necessita de ATP. Além disso, a primeira reação de cada rota é inibida pelo produto final da via. Esse fato provê um mecanismo para direcionar o IMP para a síntese da espécie de purina que estiver presente em menor quantidade. Se ambos, AMP e GMP, estiverem presentes em quantidades adequadas, a síntese de purinas pela via *de novo* é inibida no passo da *amidotransferase*.

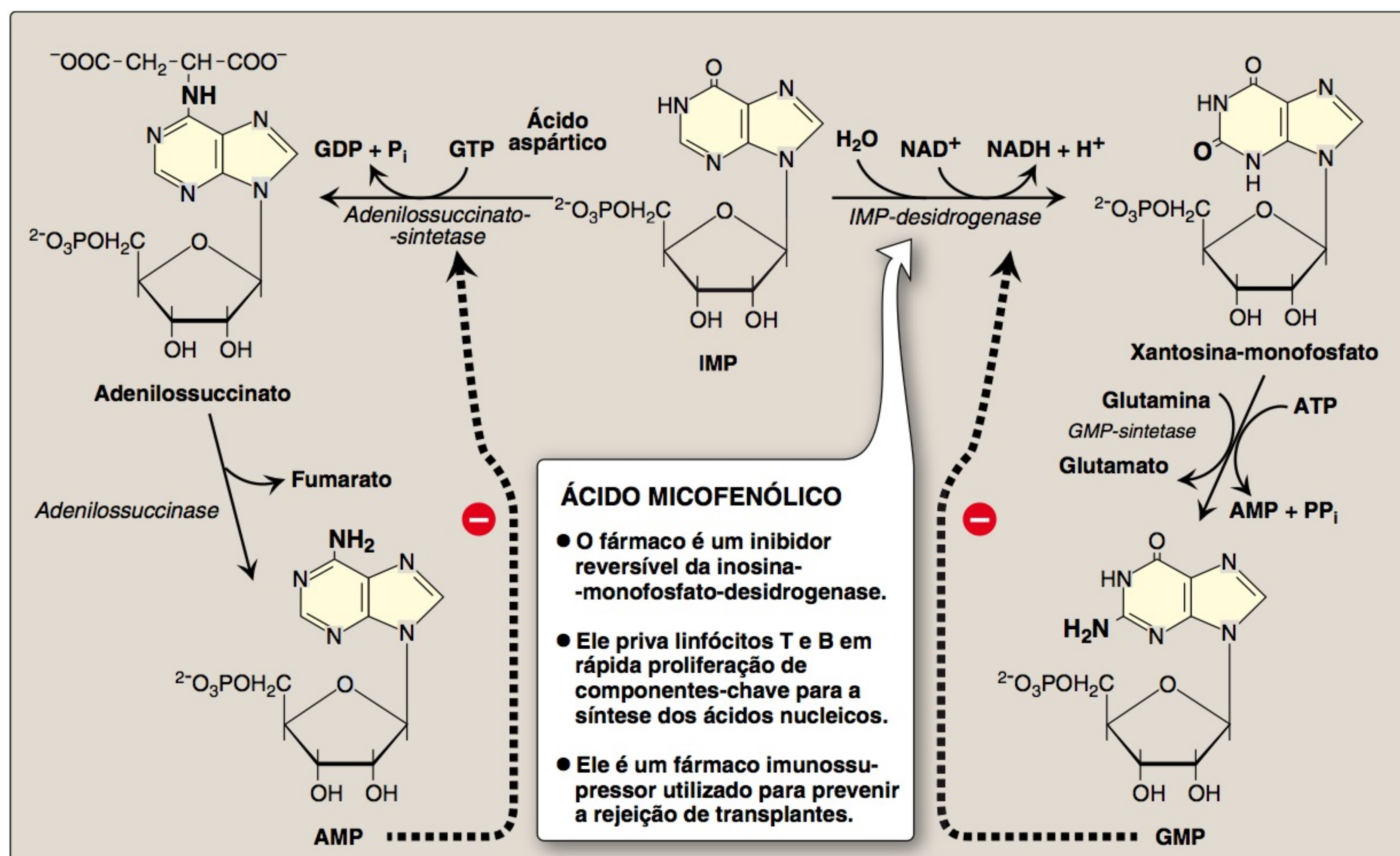


Figura 22.8

Conversão do IMP em AMP e GMP, mostrando a inibição por retroalimentação (*feedback*).

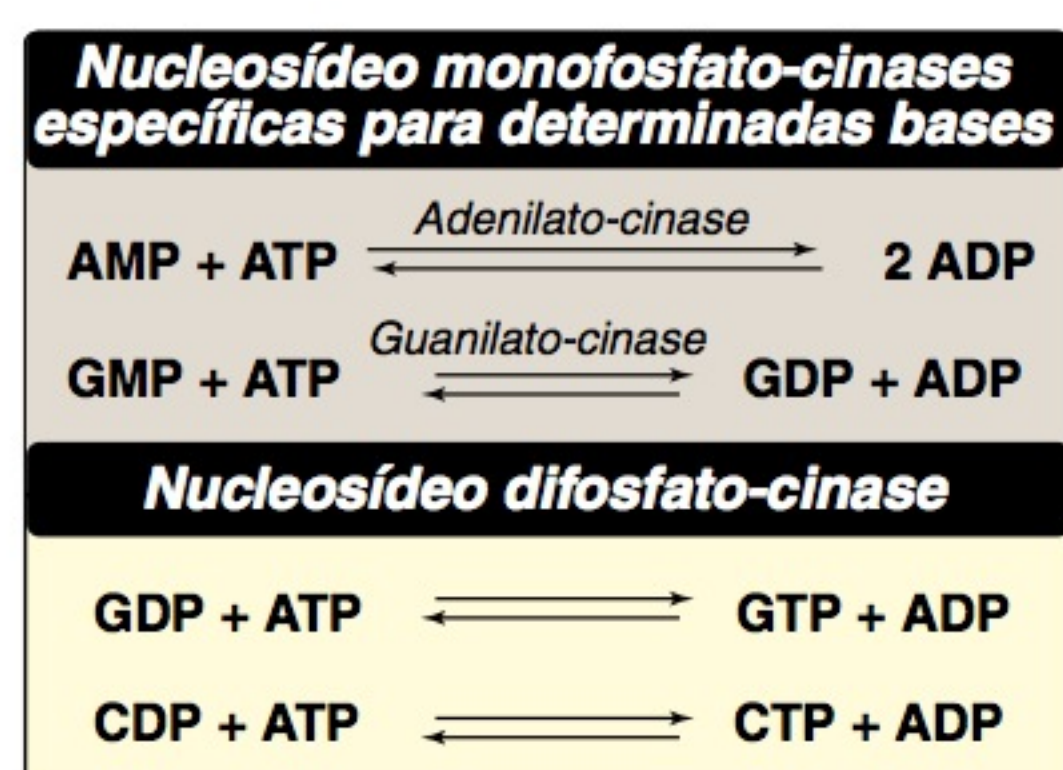


Figura 22.9

Conversão de nucleosídeos monofosfato a nucleosídeos difosfato e trifosfato.

F. Conversão de nucleosídeos monofosfato em nucleosídeos difosfato e trifosfato

Os nucleosídeos difosfato são sintetizados a partir dos nucleosídeos monofosfato correspondentes, pela atividade de *nucleosídeos monofosfato-cinases* específicas para cada base (Figura 22.9). (Nota: essas *cinases* não discriminam a ribose da desoxirribose no substrato.) Geralmente, o ATP é a fonte dos fosfatos transferidos, pois está presente em concentrações mais altas do que os demais nucleosídeos trifosfato. A *adenilato-cinase* é especialmente ativa no fígado e no músculo, onde a taxa de renovação da energia do ATP é alta. Sua função é manter o equilíbrio entre AMP, ADP e ATP. Nucleosídeos difosfato e trifosfato são interconvertíveis pela ação da *nucleosídeo difosfato-cinase* – enzima que, diferentemente das *monofosfato-cinases*, apresenta ampla especificidade.

G. Via de salvação para as purinas

As purinas que resultam da renovação normal dos ácidos nucleicos celulares, ou da pequena quantidade obtida da dieta e que não é degradada, podem ser convertidas em nucleosídeos trifosfato e usadas pelo organismo. Essa via é a chamada “via de salvação” para as purinas.

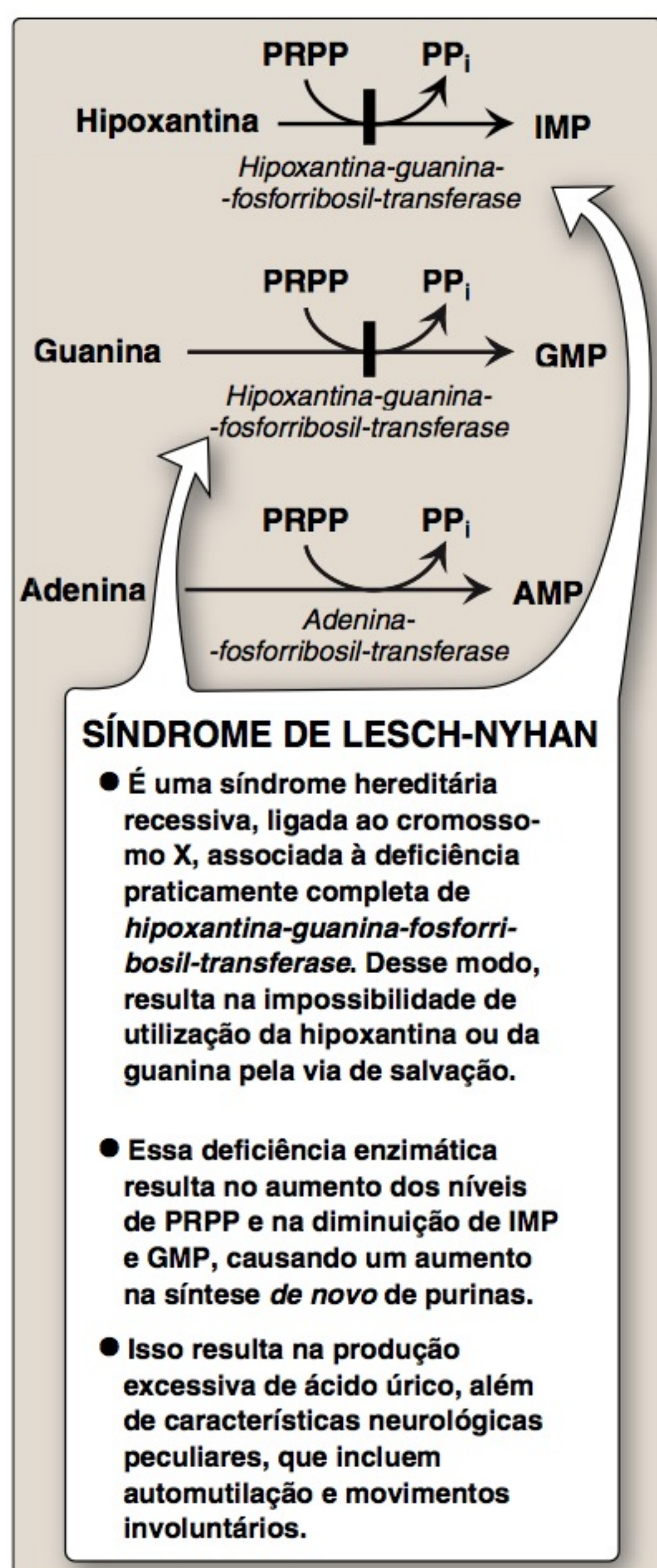


Figura 22.10

Vias de salvação na síntese de nucleotídeos púricos.

1. **Conversão de bases púricas a nucleotídeos.** Duas enzimas estão envolvidas: *adenina-fosforribosil-transferase* (APRT) e *hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase* (HGPRT). Ambas as enzimas utilizam PRPP como fonte do grupo ribose-5-fosfato. A liberação de pirofosfato e sua subsequente hidrólise pela pirofosfatase tornam essas reações irreversíveis (Figura 22.10). (Nota: a adenosina é o único nucleosídeo púrico a ser reaproveitado. Ela é fosforilada até AMP pela *adenosina-cinase*.)

2. **Síndrome de Lesch-Nyhan.** Essa síndrome é uma doença rara, recessiva, ligada ao cromossomo X, associada a uma deficiência praticamente total de *HGPRT*. Essa deficiência resulta na incapacidade de utilizar a via de salvação para hipoxantina ou guanina, levando à produção de quantidades excessivas de ácido úrico, o produto final da via de degradação das purinas (veja a p. 298). Além disso, a falta dessa via de salvação causa aumento nos níveis de PRPP e diminuição nos níveis de IMP e GMP. Como consequência, a *glutamina:fosforribosil-pirofosfato-amidotransferase* (o passo regulado na síntese das purinas) fica com excesso de substrato e menor disponibilidade de inibidores, e a síntese *de novo* das purinas é aumentada. A combinação da diminuição na reutilização das purinas, com o aumento da síntese desses compostos, resulta em aumento da degradação das purinas e na produção de grandes quantidades de ácido úrico, tornando a síndrome de Lesch-Nyhan uma causa hereditária de hiperuricemia. Em pacientes com a síndrome de Lesch-Nyhan, a hiperuricemia frequentemente resulta na formação de pedras de ácido úrico nos rins (urolitíase) e na deposição de cristais de urato nas articulações (artrite gotosa) e nos tecidos moles. Além disso, a síndrome se caracteriza por disfunção motora, déficit cognitivo e distúrbios comportamentais que incluem automutilação (mordidas nos lábios e dedos, Fig. 22.11).

IV. SÍNTESE DE DESOXIRRIBONUCLEOTÍDEOS

Os nucleotídeos descritos anteriormente neste capítulo contêm, todos, ribose (ribonucleotídeos). Os nucleotídeos necessários para a síntese de DNA, entretanto, são 2'-desoxirribonucleotídeos, os quais são produzidos a partir de

ribonucleosídeos difosfato pela enzima *ribonucleotídeo-redutase*, durante a fase S do ciclo celular (veja a p. 407). (Nota: as mesmas enzimas agem sobre os ribonucleotídeos pirimídicos.)

A. Ribonucleotídeo-redutase

A *ribonucleotídeo-redutase* (*ribonucleosídeo difosfato-redutase*) é uma enzima composta por duas subunidades diméricas não idênticas, R1 e R2, sendo específica para a redução dos nucleosídeos difosfato púricos (ADP e GDP) e nucleosídeos difosfato pirimídicos, citidina difosfato (CDP) e uridina difosfato (UDP) às suas formas desoxi (dADP, dGDP, dCDP e dUDP). Os doadores imediatos dos átomos de hidrogênio necessários para a redução do grupo 2'-hidroxila são dois grupos sulfidríla, presentes na própria enzima, que, durante a reação, formam uma ligação dissulfeto (Figura 22.12).

- 1. Regeneração da enzima reduzida.** Para que a *ribonucleotídeo-redutase* possa continuar produzindo desoxirribonucleotídeos, a ligação dissulfeto, criada durante a produção do 2'-desoxicarbono, deve ser reduzida. Para esse propósito, a fonte dos equivalentes redutores é a tiorredoxina – uma coenzima peptídica da *ribonucleotídeo-redutase*. A tiorredoxina contém, na cadeia peptídica, dois resíduos de cisteína separados por dois aminoácidos. São esses grupos sulfidríla da tiorredoxina que doam seus átomos de hidrogênio para a *ribonucleotídeo-redutase*, formando, durante esse processo, uma ligação dissulfeto (veja a p. 19).
- 2. Regeneração da tiorredoxina reduzida.** A tiorredoxina deve ser convertida novamente na sua forma reduzida para que possa continuar exercendo sua função. Os equivalentes redutores necessários são fornecidos pelo $\text{NADPH} + \text{H}^+$, e a reação é catalisada pela *tiorredoxina-redutase* (veja a Figura 22.12).

B. Regulação da síntese de desoxirribonucleotídeos

A *ribonucleotídeo-redutase* é responsável pela manutenção de um balanço adequado dos desoxirribonucleotídeos necessários à síntese de DNA. Para conseguir desempenhar essa função, a enzima sofre uma regulação complexa. Além do sítio catalítico (sítio ativo), existem na enzima sítios alostéricos envolvidos na regulação da sua atividade (Figura 22.13).

- 1. Sítios de atividade.** A ligação do dATP a sítios alostéricos (conhecidos como sítios de atividade) na enzima inibe a atividade catalítica geral da enzima e, portanto, impede a redução de qualquer um dos quatro nucleosídeos difosfato. Isso previne efetivamente a síntese de DNA e explica a toxicidade de níveis elevados de dATP, observados em certas condições, como na deficiência de *adenosina-desaminase* (veja a p. 301). Em contraste, ATP, quando ligado a esses sítios, ativa a enzima.
- 2. Sítios de especificidade ao substrato.** A ligação de nucleosídeos trifosfato a sítios alostéricos adicionais (conhecidos como sítios de especificidade ao substrato) na enzima regula a especificidade ao substrato, causando aumento na conversão de diferentes espécies de ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos, de acordo com a necessidade para a síntese de DNA. Por exemplo, quando a desoxitimidina trifosfato (dTTP) se liga aos sítios de especificidade, causa uma mudança conformacional que permite a redução de GDP a dGDP no sítio catalítico.



Figura 22.11

Lesões nos lábios de pacientes portadores da síndrome de Lesch-Nyhan, causadas por automutilação.

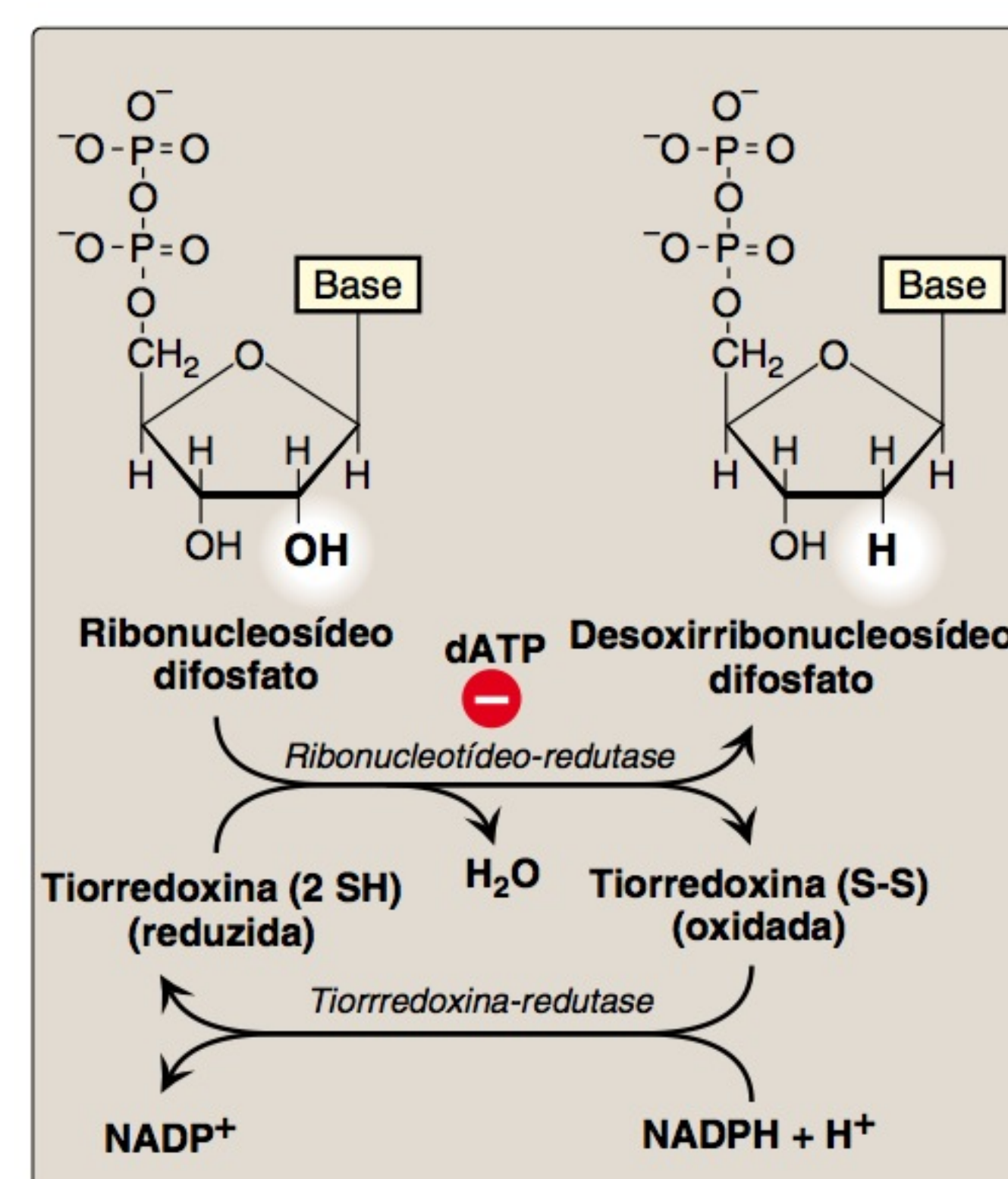


Figura 22.12

Conversão de ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos.

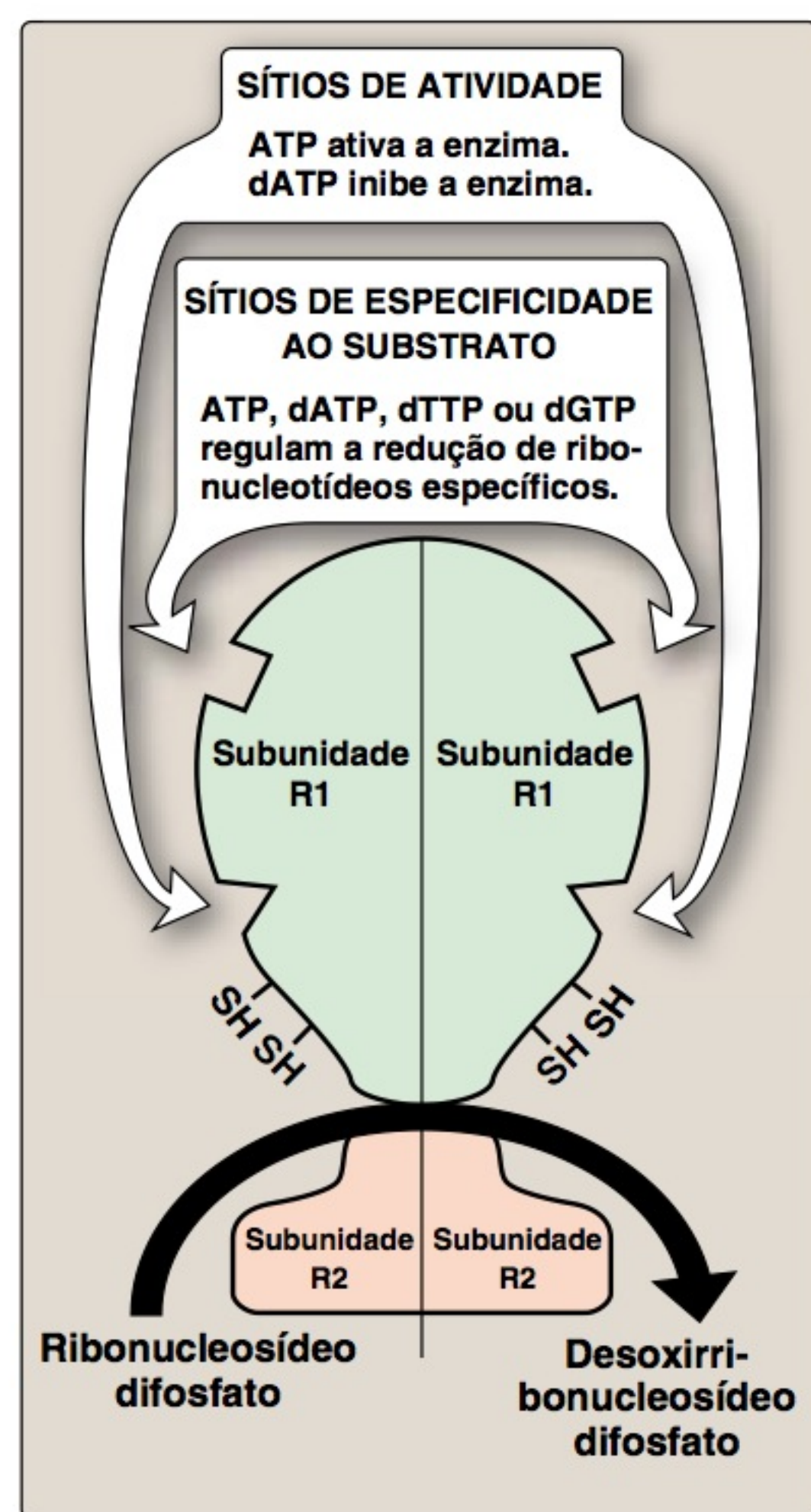


Figura 22.13

Regulação da *ribonucleotídeo-redutase*.

O fármaco hidroxiureia destrói o radical livre necessário para a atividade enzimática da *ribonucleotídeo redutase*, inibindo a geração de substratos necessários para a síntese de DNA. Assim, a hidroxiureia tem sido usada no tratamento de cânceres como a leucemia mieloide crônica e de doenças como a anemia falciforme (veja a p. 36). Entretanto, o aumento observado na hemoglobina fetal com hidroxiureia não tem relação com o efeito do fármaco sobre a *ribonucleotídeo redutase*.

V. DEGRADAÇÃO DOS NUCLEOTÍDEOS PÚRICOS

A degradação dos ácidos nucleicos da dieta ocorre no intestino delgado, onde um conjunto de enzimas pancreáticas hidrolisa os ácidos nucleicos a nucleotídeos. Dentro das células da mucosa intestinal, os nucleotídeos púricos são sequencialmente degradados por enzimas específicas a nucleosídeos e bases livres, com o ácido úrico sendo o produto final da via. (Nota: os nucleotídeos púricos sintetizados pela via *de novo* são degradados principalmente pelo fígado. As bases livres são enviadas para fora do fígado e reaproveitadas pelos tecidos periféricos.)

A. Degradação dos ácidos nucleicos da dieta no intestino delgado

As *ribonucleases* e as *desoxirribonucleases*, secretadas pelo pâncreas, hidrolisam o RNA e o DNA oriundos da dieta, produzindo principalmente oligonucleotídeos. Os oligonucleotídeos são, a seguir, hidrolisados pelas *fosfodiesterases* pancreáticas, produzindo uma mistura de 3'- e 5'-mononucleotídeos. Nas células da mucosa intestinal, uma família de *nucleotídeses* remove hidroliticamente os grupos fosfato, liberando nucleosídeos que são posteriormente degradados a bases livres. As bases púricas da dieta não são usadas em quantidade significativa para a síntese dos ácidos nucleicos teciduais. Em vez disso, as purinas da dieta são geralmente convertidas em ácido úrico pelas células da mucosa intestinal. A maior parte do ácido úrico entra no sangue, sendo, após, excretado pela urina. Um resumo dessa rota é mostrado na Figura 22.14. (Nota: mamíferos, exceto os primatas, expressam a enzima *urato-oxidase*, a qual cliva o anel púrico, gerando a alantoína. Assim, o uso da *urato-oxidase* recombinante é uma estratégia terapêutica promissora para diminuir os níveis de urato.)

B. Formação do ácido úrico

Na Figura 22.15, é mostrado um resumo dos passos envolvidos na produção do ácido úrico e das doenças genéticas associadas a deficiências de determinadas enzimas dessa via de degradação. (Nota: os números entre colchetes se referem a reações específicas na figura.)

- [1] Um grupo amino é removido do AMP para produzir IMP pela *AMP desaminase*, ou da adenosina para produzir inosina (hipoxantina-ribose) pela *adenosina-desaminase*.
- [2] IMP e GMP são convertidos em suas formas nucleosídicas – inosina e guanosina – pela ação da *5'-nucleotídeo*.

- [3] A *purina-nucleosídeo fosforilase* converte inosina e guanina em suas respectivas bases púricas, hipoxantina e guanina. (Nota: uma *mutase* interconverte ribose 1-fosfato e ribose 5-fosfato.)
- [4] A guanina é desaminada, formando a xantina.
- [5] A hipoxantina é oxidada pela *xantina-oxidase*, formando a xantina, que é subsequentemente oxidada pela *xantina-oxidase*, produzindo ácido úrico, que é o produto final da degradação das purinas em humanos. O ácido úrico é principalmente excretado na urina.

C. Doenças associadas à degradação das purinas

1. **Gota.** A gota é uma doença caracterizada por altos níveis de ácido úrico – o produto final do catabolismo das purinas – no sangue (hiperuricemia), como resultado de sua superprodução ou de sua baixa excreção. A hiperuricemia pode resultar na deposição de cristais de urato monossódico nas articulações e em uma resposta inflamatória aos cristais, causando inicialmente um quadro agudo e, progressivamente, levando à artrite gotosa crônica. Massas nodulares de cristais de urato monossódico (tofus) são depositadas nos tecidos moles do corpo, resultando em gota tofácea crônica (Fig. 22.16). A formação de pedras de ácido úrico nos rins (urolitíase) também pode ocorrer. (Nota: a hiperuricemia é assintomática e não leva à gota necessariamente, mas a gota é precedida pela hiperuricemia.) O diagnóstico definitivo da gota requer a coleta por aspiração e a análise do fluido sinovial (Fig. 22.17) de uma articulação afetada (ou material de um tofo), por meio da microscopia de luz polarizada, para a confirmação da presença de cristais de urato monossódico com o formato de agulha (Fig. 22.18).

- a. **Baixa excreção de ácido úrico.** Na grande maioria dos pacientes, a hiperuricemia que leva à gota é causada pela baixa excreção do ácido úrico. A diminuição da excreção pode ser primária, resultando de problemas excretórios hereditários ainda não identificados, ou secundária a processos patológicos conhecidos, que afetam a maneira como os rins processam o urato, como por exemplo, a acidose láctica (lactato e urato competem pelo mesmo transportador renal) e fatores ambientais, como o uso de fármacos, por exemplo, diuréticos tiazídicos, ou exposição ao chumbo (gota saturnina).

- b. **Superprodução de ácido úrico.** Uma causa menos comum de gota é a hiperuricemia causada pela superprodução de ácido úrico. A hiperuricemia primária é na maioria das vezes idiopática (sem causa conhecida). Entretanto, foram identificadas várias mutações no gene da *PRPP-sintetase*, ligado ao cromossomo X, que resultam em: uma enzima com $V_{\text{máx}}$ aumentado (veja a p. 58) para a produção do PRPP, um menor K_m (veja a p. 59) para a ribose 5-fosfato, ou uma sensibilidade diminuída aos nucleotídeos púricos – seus inibidores alostéricos (veja a p. 62). Em cada um dos casos, a maior disponibilidade de PRPP aumenta a produção das purinas, resultando em níveis elevados de ácido úrico plasmático. A síndrome de Lesch-Nyhan (veja a p. 296) também causa hiperuricemia, como resultado da diminuição da via de salvação das bases hipoxantina e guanina e do subse-

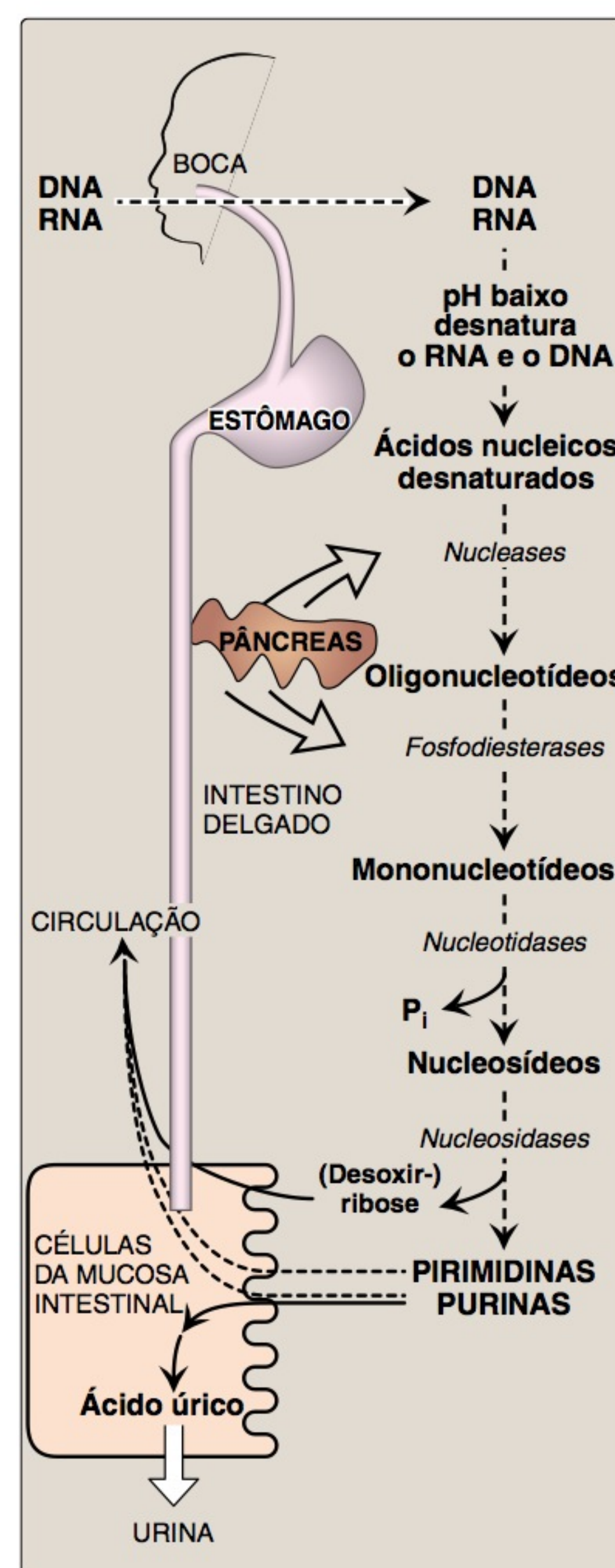


Figura 22.14

Digestão dos ácidos nucleicos da dieta. (Nota: boa parte do metabolismo dos mononucleotídeos ocorre dentro das células da mucosa intestinal.)

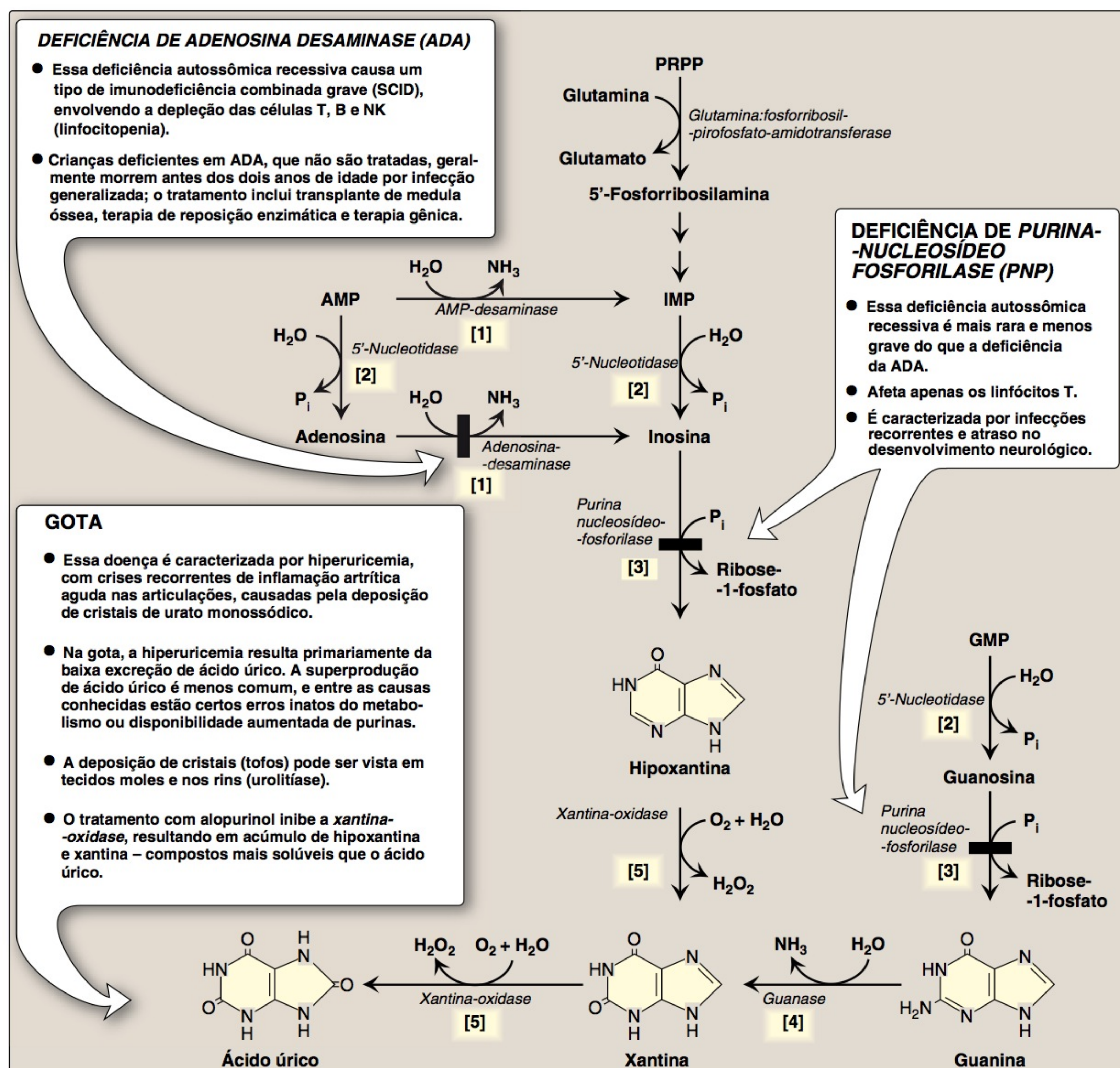


Figura 22.15

A degradação dos nucleotídeos purínicos até ácido úrico, ilustrando algumas das doenças genéticas associadas a essa via. (Nota: os números entre colchetes referem-se aos números correspondentes citados no texto.)

quente aumento na disponibilidade de PRPP. A hiperuricemia secundária é tipicamente consequência do aumento da disponibilidade das purinas, por exemplo, em pacientes com doenças mieloproliferativas, ou aqueles submetidos à quimioterapia, os quais possuem alta taxa de renovação celular. A hiperuricemia que leva à gota pode também ser oriunda de doenças metabólicas aparentemente não relacionadas, como a doença de von Gierke (veja a Figura 11.8 na p. 129) ou a intolerância à frutose (veja a p. 138).

Uma dieta rica em carne e frutos do mar (especialmente crustáceos e moluscos) está associada a um risco aumentado de gota, ao passo que uma dieta rica em laticínios com baixo teor de gordura está associada a risco diminuído.

c. **Tratamento para a gota.** Ataques agudos de gota são tratados com agentes anti-inflamatórios. Colchicina, fármacos esteroides como a prednisona e não esteroides como a indometacina são empregados no tratamento. (Nota: a colchicina despolimeriza os microtúbulos, dessa forma diminuindo o movimento dos neutrófilos dentro da área afetada. Como os outros fármacos anti-inflamatórios, não possui efeito sobre os níveis de ácido úrico.) As estratégias terapêuticas a longo prazo para a gota envolvem a diminuição dos níveis de ácido úrico abaixo do ponto de saturação, prevenindo dessa forma a deposição dos cristais de urato. Agentes uricosúricos, como probenecida ou sulfimpirazona, que aumentam a excreção renal do ácido úrico, são usados nos pacientes que excretam baixas quantidades de ácido úrico. O alopurinol, um análogo estrutural da hipoxantina, inibe a síntese do ácido úrico, sendo utilizado em pacientes cuja hiperuricemia é resultante da superprodução de ácido úrico. No organismo, o alopurinol é convertido em oxipurinol, o qual inibe a *xantina-oxidase* (XO), resultando no acúmulo de hipoxantina e xantina (veja a Figura 22.15) – compostos mais solúveis do que o ácido úrico e, portanto, com menor probabilidade de promoverem uma resposta inflamatória. Em pacientes com níveis normais de *HGPRT*, a hipoxantina pode ser recuperada pela via de salvação, reduzindo assim os níveis de PRPP e, então, diminuindo a síntese de purinas pela via *de novo*. O Febuxostat, um novo inibidor não púrico da XO, encontra-se disponível no mercado. (Nota: os níveis sanguíneos de ácido úrico estão normalmente próximos do ponto de saturação. Uma razão para isso pode ser o potente efeito antioxidante do ácido úrico.)

2. **Deficiência de adenosina-desaminase (ADA).** A ADA é expressa numa variedade de tecidos, mas, em humanos, são os linfócitos que possuem a mais alta atividade dessa enzima citoplasmática. A deficiência de ADA resulta no acúmulo de adenosina, que é convertida em suas formas de ribonucleotídeo ou desoxirribonucleotídeo pelas *cinases* celulares. Como consequência da elevação dos níveis de dATP, a *ribonucleotídeo-redutase* é inibida, evitando assim a produção de todos os nucleotídeos contendo desoxirribose (veja a p. 297). Consequentemente, as células se tornam incapazes de sintetizar DNA e dividir-se. (Nota: o dATP e a adenosina que acumulam na deficiência de ADA interrompem o desenvolvimento dos linfócitos, levando-os à apoptose.) Na sua forma mais grave, essa doença autossômica recessiva causa um tipo de imunodeficiência combinada grave (SCID, de *severe combined immunodeficiency disease*), em que se observa uma diminuição dos linfócitos T, B e das células NK (*natural killer*). Há estimativas de que, nos Estados Unidos, a deficiência de ADA contribua com aproximadamente 14% de todos os casos de SCID. O tratamento requer transplante de medula óssea ou terapia de reposição da enzima. Sem tratamento apropriado, crianças com essa doença normalmente morrem por volta dos dois



Figura 22.16
Gota tofácea.

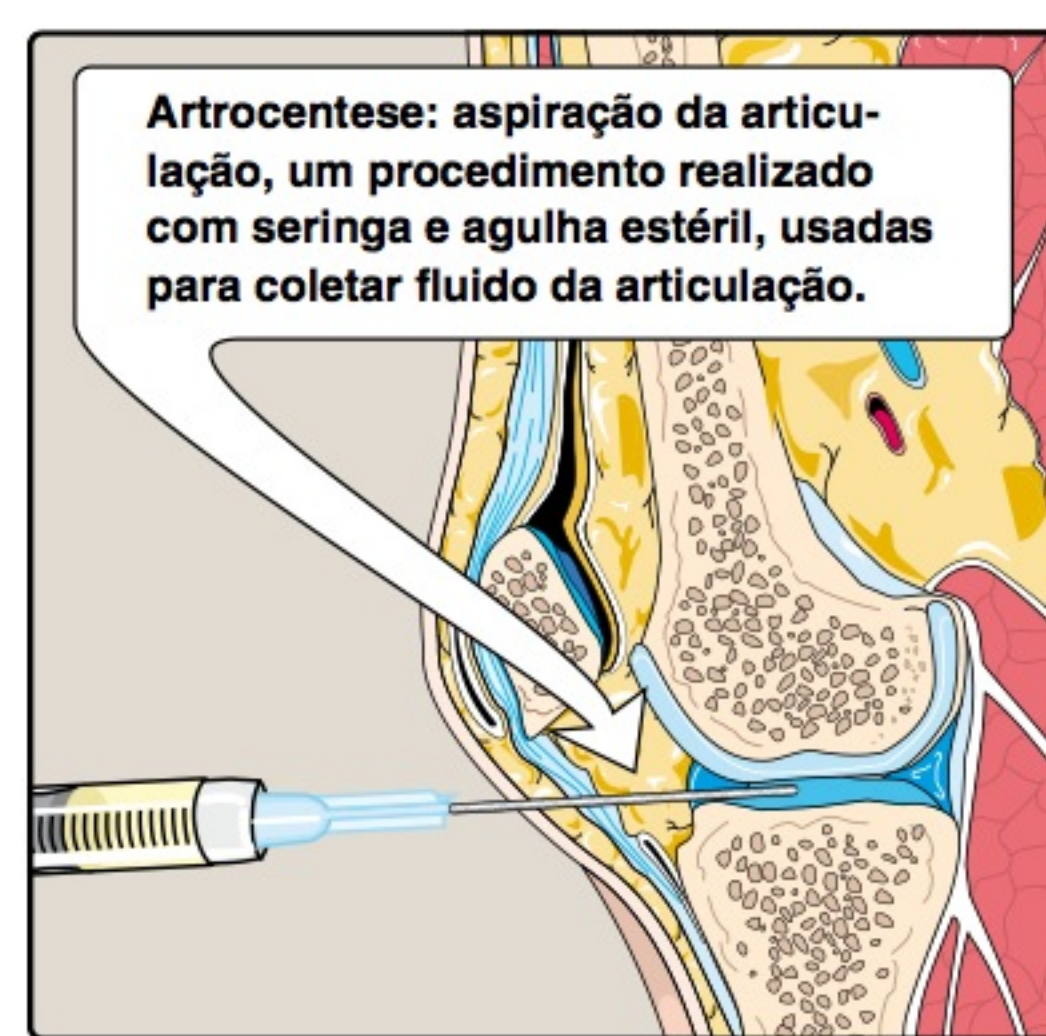


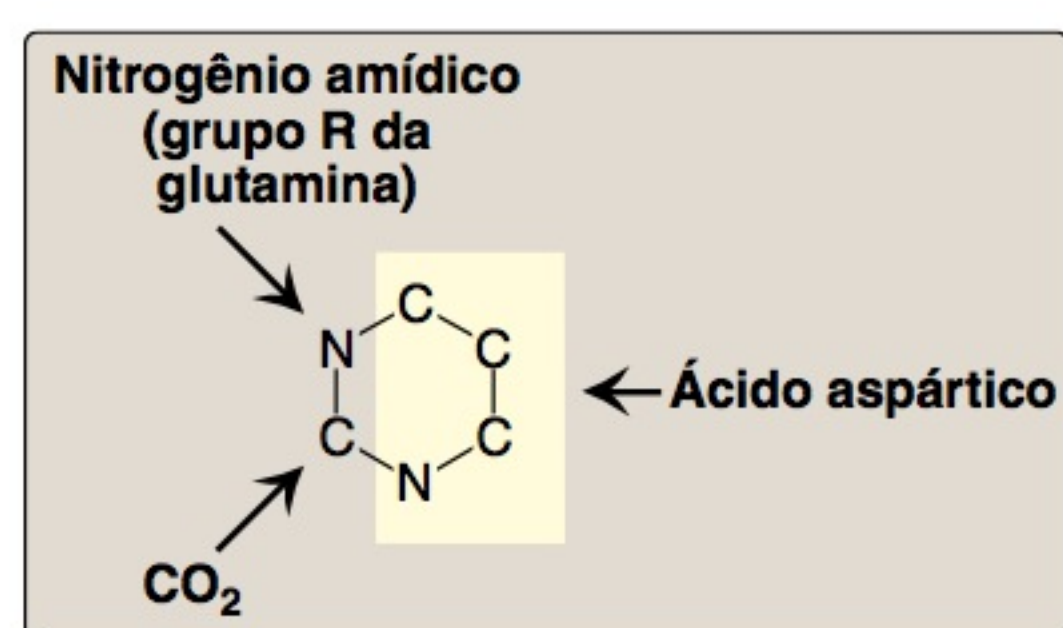
Figura 22.17

A análise do fluido coletado da articulação pode auxiliar a definir as causas da inflamação da articulação ou artrite, como infecção, gota e doença reumatoide.



Figura 22.18

A gota pode ser diagnosticada pela presença de cristais de urato monossódico, negativamente birrefringentes, em aspirados de fluido sinovial, examinados em microscópio de luz polarizada. Na figura, cristais podem ser vistos dentro dos leucócitos polimorfonucleares.

**Figura 22.19**

Fontes de cada átomo constituinte do anel pirimídico.

	CPS I	CPS II
Localização celular	Mitocôndria	Citosol
Via envolvida	Ciclo da ureia	Síntese de pirimidinas
Fonte de nitrogênio	Amônia	Grupo γ amida da glutamina
Reguladores	Ativador: N-acetil-glutamato	Ativador: PRPP Inibidor: UTP

Figura 22.20

Resumo das diferenças entre as enzimas *carbamoyl-fosfato-sintetase* (CPS) I e II.

anos de idade. (Nota: a deficiência de *purina-nucleosídeo fosforilase* [PNP] resulta numa imunodeficiência menos grave, envolvendo principalmente os linfócitos T.)

VI. SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DAS PIRIMIDINAS

Ao contrário da síntese do anel púrico, que é construído sobre uma ribose-5-fosfato preexistente, o anel pirimidínico é sintetizado previamente, sendo depois ligado à ribose-5-fosfato, a qual é doada pelo PRPP. As fontes dos átomos do anel pirimidínico são glutamina, CO₂ e ácido aspártico (Figura 22.19). (Nota: glutamina e ácido aspártico são necessários para ambas as sínteses, de purinas e de pirimidinas.)

A. Síntese de carbamoyl-fosfato

O passo regulado dessa via em células de mamíferos é a síntese de carbamoyl-fosfato a partir de glutamina e CO₂, catalisada pela *carbamoyl-fosfato-sintetase* (CPS) II. A CPS II é inibida por UTP (o produto final dessa via, que pode ser convertido nos outros nucleotídeos pirimidínicos) e ativada por PRPP. (Nota: o carbamoyl-fosfato, sintetizado pela CPS I, é também um precursor da ureia (veja a p. 253). Deficiência da *ornitina-transcarbamoylase* do ciclo da ureia promove a síntese de pirimidina, devido ao aumento da disponibilidade do carbamoyl-fosfato. Uma comparação entre essas duas enzimas é apresentada na Figura 22.20.)

B. Síntese do ácido orótico

O segundo passo na síntese das pirimidinas é a formação de carbamoyl-aspartato, catalisada pela *aspartato-transcarbamoylase*. O anel pirimidínico é então fechado hidroliticamente pela *di-hidro-ototase*. O di-hidro-ototato resultante é oxidado, produzindo ácido orótico (ototato; Figura 22.21). A enzima que produz o ototato, *di-hidro-ototato-desidrogenase*, está associada à membrana interna da mitocôndria. Todas as outras enzimas envolvidas na biossíntese das pirimidinas são citosólicas. (Nota: as primeiras três atividades enzimáticas dessa via [CPS II, *aspartato-transcarbamoylase* e *di-hidro-ototase*] são na verdade três domínios catalíticos diferentes de uma única cadeia polipeptídica, conhecida como CAD, abreviatura formada pela primeira letra do nome de cada domínio. [Veja a p. 19 para uma discussão acerca de domínios.] Esse é um exemplo de polipeptídeo multifuncional ou multicatalítico que facilita a síntese ordenada de um importante composto. A síntese do nucleotídeo púrico, IMP, também envolve proteínas multifuncionais.)

C. Formação de um nucleotídeo pirimídico

O anel pirimídico completo é convertido no nucleotídeo ototidina 5'-monofosfato (OMP) no segundo estágio da síntese de nucleotídeos pirimidínicos (veja a Figura 22.21). O PRPP é novamente o doador da ribose-5-fosfato. A enzima *ototato fosforribosil-transferase* produz OMP e libera pirofosfato, com isso tornando a reação biologicamente irreversível. (Nota: tanto a síntese de purinas quanto a síntese de pirimidinas requer glutamina, ácido aspártico e PRPP como precursores essenciais.) OMP, o precursor dos mononucleotídeos pirimidínicos, é convertido em monofosfato de uridina (UMP) pela *ototidilato-descarboxilase*, que remove o grupo carboxila ácido. A *ototato fosforribosil-transferase* e a *ototidilato-descarboxilase* são também domínios catalíticos de uma única cadeia polipeptídica, chamada UMP-sintase. A acidúria orótica – um defeito genético raro – pode ser causada pela deficiência de uma ou ambas atividades dessa enzima bifuncional, resultando em ácido orótico na urina (veja a Figura 22.21). O

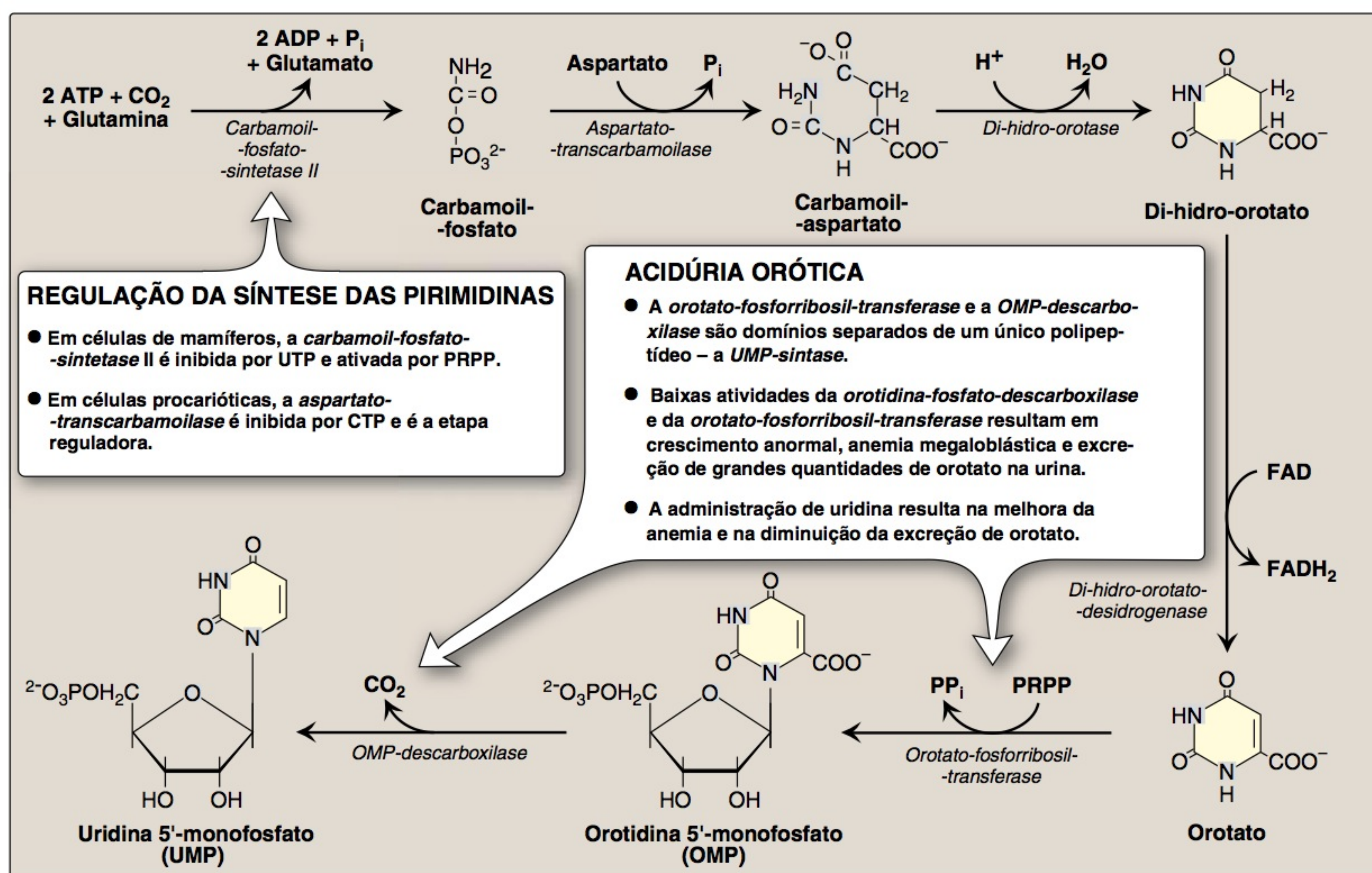


Figura 22.21

Síntese de novo das pirimidinas.

UMP é sequencialmente fosforilado a UDP e UTP. (Nota: o UDP é substrato da *ribonucleotídeo-redutase*, a qual produz o dUDP. O dUDP é fosforilado a dUTP, que é rapidamente hidrolizado a dUMP pela *UTP-difosfatase* [*dUTPase*]. *dUTPase*, então, desempenha um papel importante, reduzindo a disponibilidade de dUTP como um substrato para a síntese de DNA, evitando assim a incorporação errônea de uracila dentro do DNA.)

D. Síntese do UTP e do trifosfato de citidina (CTP)

O CTP é produzido pela aminação do UTP pela *CTP-sintetase* (Fig. 22.22), sendo a glutamina a doadora do nitrogênio. (Nota: uma parte do CTP é desfosforilado a CDP, o qual é substrato para a *ribonucleotídeo-redutase*. O dCDP originado pode ser fosforilado a dCTP para a síntese de DNA.)

E. Síntese de monofosfato de timidina (TMP) a partir do dUMP

O dUMP é convertido em dTMP pela *timidilato-sintase*, que utiliza o N^5,N^{10} -metileno tetra-hidrofolato como fonte do grupo metila (veja a p. 267 para uma discussão sobre essa coenzima). Essa é uma reação incomum, em que o tetra-hidrofolato (THF) contribui não somente com uma unidade de carbono, como também com dois átomos de hidrogênio do anel pteridina, resultando na oxidação do THF a di-hidrofolato (DHF) (Fig. 22.23). Inibidores da *timidilato-sintase* incluem análogos da timina, como o 5-fluoruracila, os quais têm sido usados com sucesso como agentes antitumorais. O 5-fluoruracila é convertido metabolicamente a 5-FdUMP, que se torna permanentemente ligado à *timidilato-sintase* inativada; por essa razão, o fármaco é chamado de inibidor “suicida”. O DHF pode ser

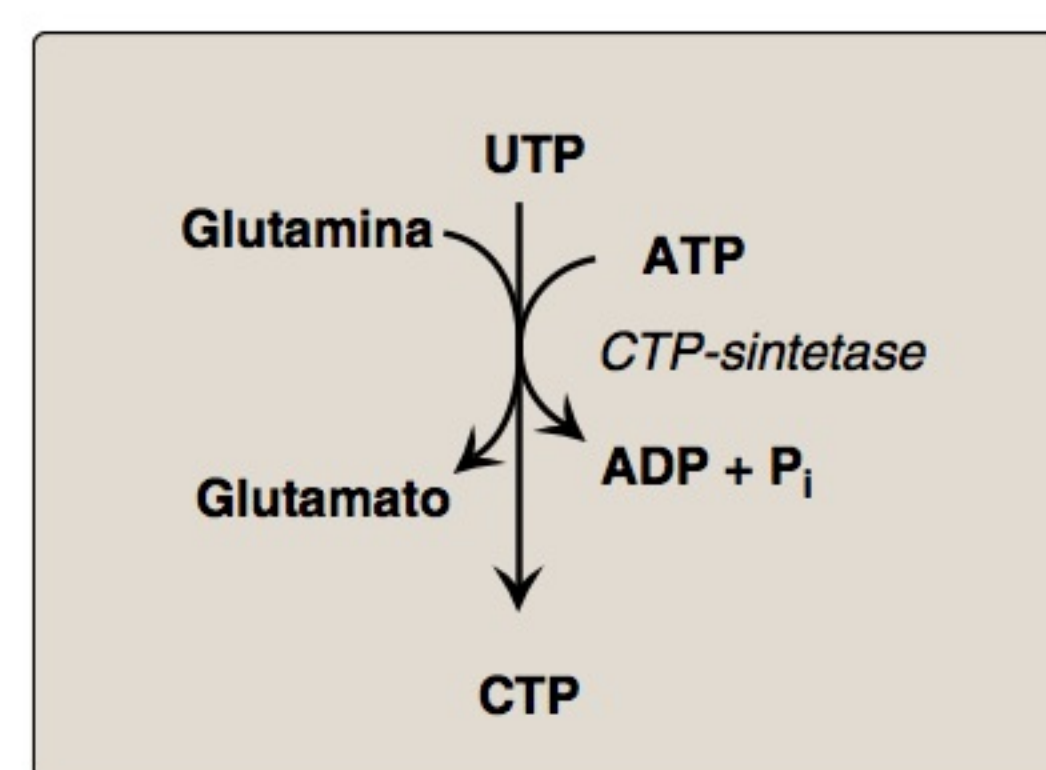


Figura 22.22

Síntese do CTP a partir do UTP. (Nota: CTP, necessário para a síntese de RNA, é convertido em dCTP para a síntese de DNA.)

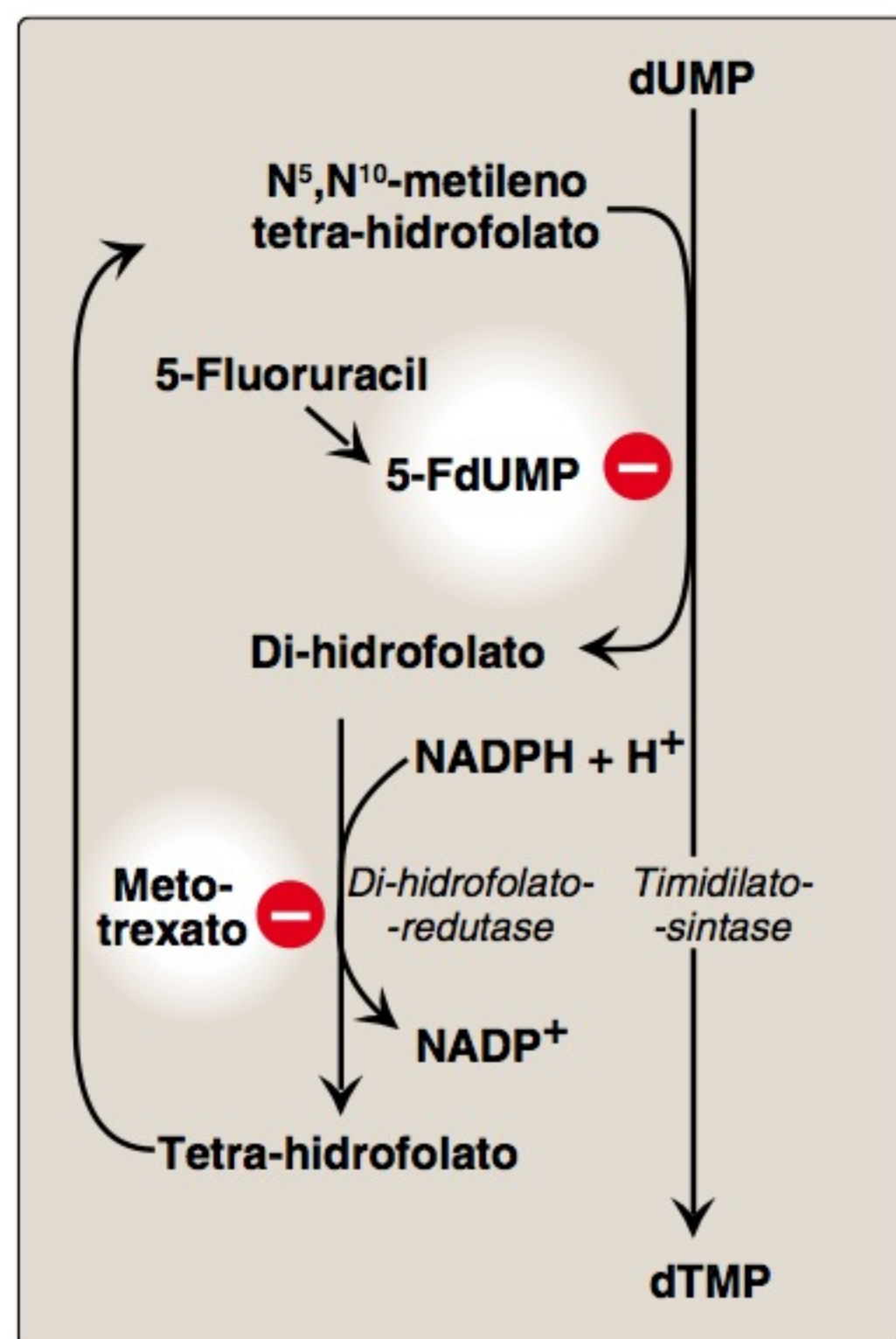


Figura 22.23

Síntese de dTMP a partir de dUMP, ilustrando os sítios de ação dos fármacos antineoplásicos.

reduzido ao THF pela *di-hidrofolato-redutase* (veja a Fig. 28.3 na p. 374), enzima inibida na presença de fármacos como o metotrexato. Pela diminuição do suprimento do THF, esses análogos do folato não somente inibem a síntese de purinas (veja a Figura 22.7), mas, impedindo a metilação do dUMP a dTMP, diminuem também a concentração celular desse componente essencial do DNA. A síntese do DNA é inibida e o crescimento celular é retardado. Portanto, fármacos como os descritos antes são utilizados para diminuir a taxa de crescimento das células cancerígenas. (Nota: o trimetoprim, um análogo do folato, tem uma potente atividade antibactericida, devido a sua ação inibitória seletiva sobre a *di-hidrofolato-redutase* bacteriana.)

F. Via de salvação para as pirimidinas

Poucas bases pirimídicas são recuperadas nas células humanas. Entretanto, os nucleosídeos pirimídicos podem ser recuperados pelas nucleosídeos *cinases* que utilizam o ATP na fosforilação dos nucleosídeos a nucleotídeos. (Nota: a recuperação dos nucleotídeos pirimídicos é a base para o uso da uridina no tratamento da acidúria orótica hereditária.)

G. Degradação dos nucleotídeos pirimídicos

Diferentemente do anel purínico, que não é clivado nas células humanas, o anel pirimídico é aberto e degradado a produtos altamente solúveis, a β -alanina e o β -aminoisobutirato, com a produção de NH_3 e CO_2 .

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

Os **nucleotídeos** são compostos por uma **base nitrogenada** (adenina = **A**, guanina = **G**, citosina = **C**, uracila = **U** e timina = **T**), uma **pentose** e um, dois ou três **grupos fosfato** (Figura 22.24). A e G são **purinas**; C, U e T são **pirimidinas**. Se o açúcar é a **ribose**, o nucleotídeo é um **ribonucleosídeo fosfato** (p. ex., AMP) e pode desempenhar várias funções na célula, incluindo a composição do **RNA**. Se o açúcar é a **desoxirribose**, o nucleotídeo é um **desoxirribonucleosídeo fosfato** (p. ex., dAMP) sendo encontrado, quase exclusivamente, como componente do **DNA**. O **passo regulável** na **síntese das purinas** usa **5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP)**, uma “pentose ativada”, que fornece o grupo ribose-fosfato na síntese *de novo* das purinas e pirimidinas e na via de salvação das purinas) e nitrogênio da **glutamina** para produzir a fosforribosilamina. A enzima é a **glutamina:PRPP-amidotransferase**, que é **inibida** por **AMP** e **GMP** (os produtos finais da via) e ativada por PRPP. Os nucleotídeos púricos podem também ser produzidos a partir de bases púricas pré-formadas, usando **vias de salvação** catalisadas pela **adenina-fosforribosil-transferase (APRT)** e pela **hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase (HGPRT)**. Uma deficiência quase total de **HGPRT** causa a **síndrome de Lesch-Nyhan** – forma grave e hereditária de hiperuricemia, acompanhada por automutilação compulsiva. Todos os desoxirribonucleotídeos são sintetizados a partir de ribonucleotídeos pela enzima **ribonucleotídeo-redutase**. Essa enzima é altamente regulada; por exemplo, é **fortemente inibida por dATP** – composto produzido em excesso nas células da medula óssea de indivíduos que possuem **deficiência de adenosina-desaminase**. Essa síndrome causa a **imunodeficiência combinada grave**. O produto final da degradação das purinas é o **ácido úrico** – composto cuja produção em excesso ou baixa excreção causa a **hiperuricemia**, que é **acompanhada pela deposição de cristais de urato nas articulações e tecidos moles**. Uma resposta inflamatória a esses cristais resulta na **gota**. O primeiro passo na **síntese de pirimidinas** – a produção de carbamoil-fosfato pela **carbamoil-fosfato-sintetase II** – é o passo **regulado** nessa via (é **inibido por UTP** e **ativado por PRPP**). O UTP produzido por essa via pode ser convertido em CTP. O dUMP pode ser convertido em dTMP, utilizando a **timidilato-sintase** – enzima-alvo para a atuação de fármacos anticâncer, como o **5-fluoruracila**. A regeneração do THF a partir do DHF produzido pela reação da timidilato sintase requer a **di-hidrofolato-redutase** – a enzima-alvo da atuação da droga **metotrexato**.

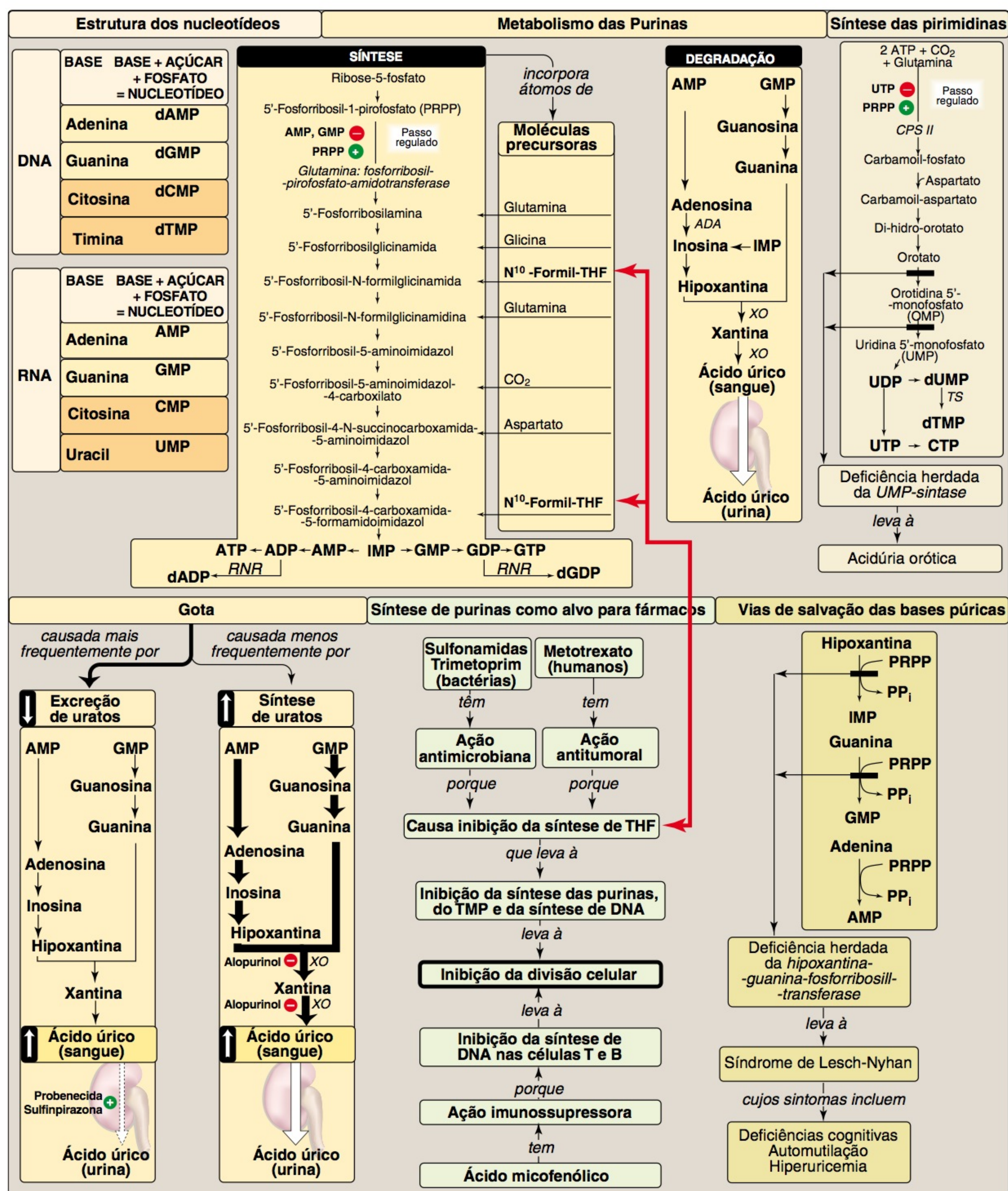


Figura 22.24

Mapa de conceitos-chave para o metabolismo dos nucleotídeos. ADA= adenosina-desaminase, XO= xantina-oxidase, TS= timidilato-sintase, RNR= ribonucleotídeo-redutase, CPS II= carbamoil-fosfato-sintetase II.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 22.1 Um paciente do sexo masculino, com 42 anos de idade, é submetido à radioterapia para tratamento de um câncer de próstata e desenvolve dor grave no hálux do pé direito. Cristais de urato monossódico são detectados por microscopia de luz polarizada do fluido coletado da sua articulação por artrocentese. Análises laboratoriais indicam cristais de urato em sua urina. Essa dor do paciente é causada diretamente pela produção excessiva do produto final de qual das seguintes rotas metabólicas?
- Biossíntese *de novo* de pirimidinas.
 - Degradação das pirimidinas.
 - Biossíntese *de novo* das purinas.
 - Via de salvação das purinas.
 - Degradação das purinas.
- 22.2 Uma paciente de 1 ano de idade está letárgica, fraca e anêmica. Seu peso e sua altura são baixos para a idade. Sua urina contém nível elevado de ácido orótico. A administração de qual dos seguintes compostos é a mais adequada para aliviar os sintomas?
- Adenina
 - Guanina
 - Hipoxantina
 - Timidina
 - Uridina
- 22.3 A taxa de síntese de DNA em uma cultura de células poderia ser mais acuradamente determinada pela medida da incorporação de qual dos seguintes compostos radioativos?
- Adenina
 - Guanina
 - Fosfato
 - Timidina
- 22.4 Qual das seguintes enzimas do metabolismo dos nucleotídeos está corretamente relacionada a seu inibidor farmacológico?
- Di-hidrofolato-redutase – metotrexato
 - IMP desidrogenase – hidroxiureia
 - Ribonucleotídeo-redutase – 5-fluoracila
 - Timidilato-sintase – alopurinol
 - Xantina-oxidase – probenecida
- 22.5 Qual teste laboratorial poderia ser utilizado para se distinguir entre a acidúria orótica causada pela deficiência da ornitina transcarbamoilase daquela causada pela deficiência da UMP-sintase?

Resposta correta = E. A dor do paciente é causada pela gota, resultante de uma resposta inflamatória causada pela cristalização do excesso de ácido úrico em suas articulações. A radioterapia causa a morte celular, degradação dos ácidos nucleicos e de seus constituintes púricos. O ácido úrico, o produto final da degradação das purinas, é um composto relativamente insolúvel, que pode causar a gota e cálculos renais. O metabolismo das pirimidinas não está associado com a produção de ácido úrico. A superprodução de purinas pode indiretamente resultar na hiperuricemia. A via de salvação das purinas diminui a produção de ácido úrico.

Resposta correta = E. A excreção elevada de ácido orótico indica que a paciente apresenta acidúria orótica, defeito genético raro que afeta a rota biossintética *de novo* das pirimidinas. Deficiências nas atividades enzimáticas da OMP-descarboxilase e/ou da orotato-fosforribosil-transferase (que são domínios da enzima UMP-sintase) deixam a paciente impossibilitada de sintetizar pirimidinas. A uridina, um nucleosídeo pirimidínico, é útil no tratamento dessa deficiência, pois contorna a falta das enzimas e pode ser transformada em UMP, que pode ser convertido em todas as outras pirimidinas. Embora a timidina seja um nucleosídeo pirimidínico, ela não pode ser convertida nas outras pirimidinas. Hipoxantina, guanina e adenina são todas bases púricas, que não podem auxiliar na reposição das pirimidinas que estão faltando.

Resposta correta = D. Uma vez que a timidina é essencialmente encontrada apenas no DNA, sua incorporação poderia refletir mais acuradamente a velocidade de síntese de DNA. A uridina é encontrada somente no RNA e poderia ser usada para medir a taxa de síntese de RNA. Fosfato, adenina e guanina estão presentes em ambos, DNA e RNA, e não poderiam ser utilizados para medir especificamente a síntese de um ou de outro.

Resposta correta = A. O metotrexato interfere com o metabolismo do folato, por agir como inibidor competitivo da enzima *di-hidrofolato-redutase*. Isso depleta as células de tetra-hidrofolato e as torna incapazes de sintetizar purinas e dTMP. A IMP desidrogenase é inibida pelo ácido micofenólico. A ribonucleotídeo-redutase é inibida pela hidroxiureia. A timidilato-sintase é inibida pela 5-fluoracila. A xantina-oxidase é inibida pelo alopurinol; a probenecida aumenta a excreção renal do urato, mas não inibe a sua produção.

Seria esperado que os níveis sanguíneos de amônia estivessem elevados na deficiência de ornitina-transcarbamoilase, mas não na deficiência de UMP-sintase.

Efeitos Metabólicos da Insulina e do Glucagon

I. VISÃO GERAL

Quatro tecidos principais exercem função dominante no metabolismo energético: fígado, tecido adiposo, músculo e encéfalo. Esses tecidos contêm conjuntos exclusivos de enzimas, de forma que cada órgão é especializado no estoque, no uso e na produção de combustíveis específicos. Esses tecidos não funcionam isoladamente, ao contrário, eles formam uma rede integrada, na qual um tecido pode fornecer substrato a outro, ou processar compostos produzidos por outros órgãos. A comunicação entre os tecidos é mediada pelo sistema nervoso, pela disponibilidade de substratos circulantes e pela variação nos níveis de hormônios plasmáticos (Figura 23.1). A integração do metabolismo energético é controlada principalmente pelas ações de dois hormônios peptídicos: a insulina e o glucagon, com as catecolaminas adrenalina e noradrenalina exercendo uma função de apoio. As alterações nos níveis circulantes desses hormônios permitem ao organismo armazenar energia quando o alimento está disponível em abundância ou tornar disponível a energia armazenada, por exemplo, durante “crises de sobrevivência”, como fome, trauma grave e situações de “luta ou fuga”. Este capítulo descreve a estrutura, a secreção e os efeitos metabólicos dos dois hormônios que mais profundamente afetam o metabolismo energético.

II. INSULINA

A insulina é um hormônio polipeptídico produzido pelas células β das ilhotas de Langerhans – grupos de células endócrinas, incrustados na porção exócrina do pâncreas (Figura 23.2). As ilhotas de Langerhans compreendem somente cerca de 1 a 2% do total de células pancreáticas. A insulina é um dos mais importantes hormônios que coordenam a utilização de combustíveis pelos tecidos. Seus efeitos metabólicos são anabólicos, favorecendo, por exemplo, a síntese de glicogênio, de triacilgliceróis e de proteínas.

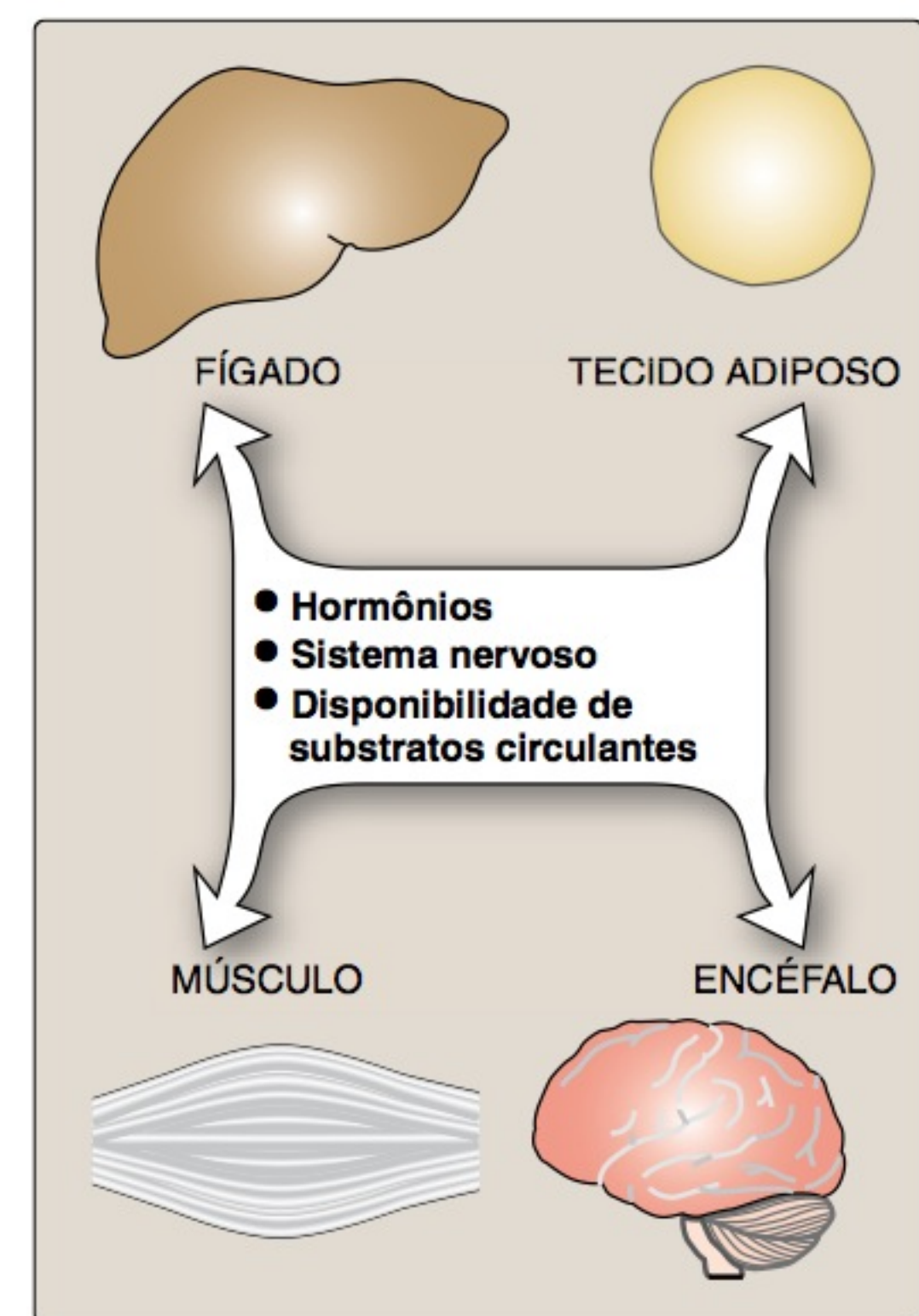
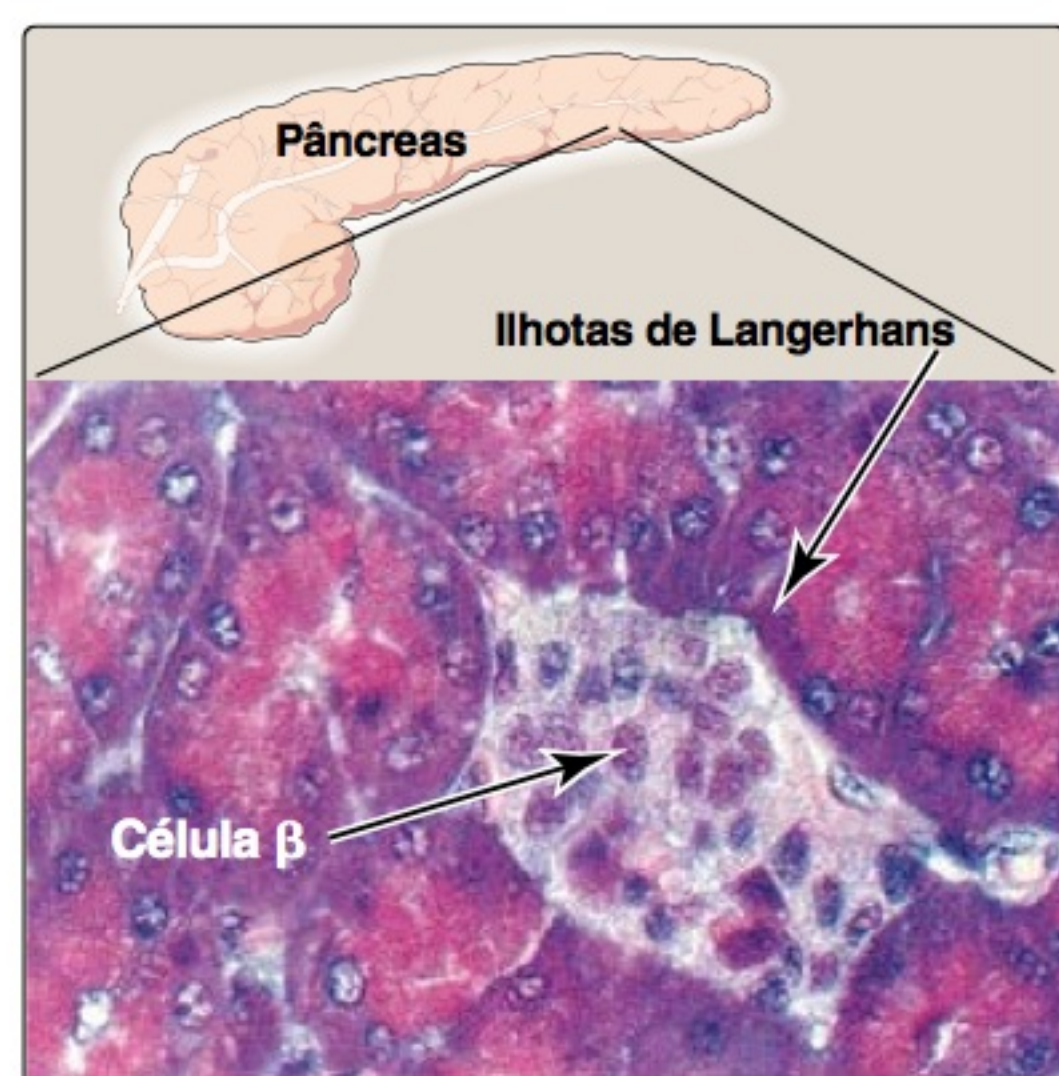


Figura 23.1

Mecanismos de comunicação entre quatro importantes tecidos.

**Figura 23.2**

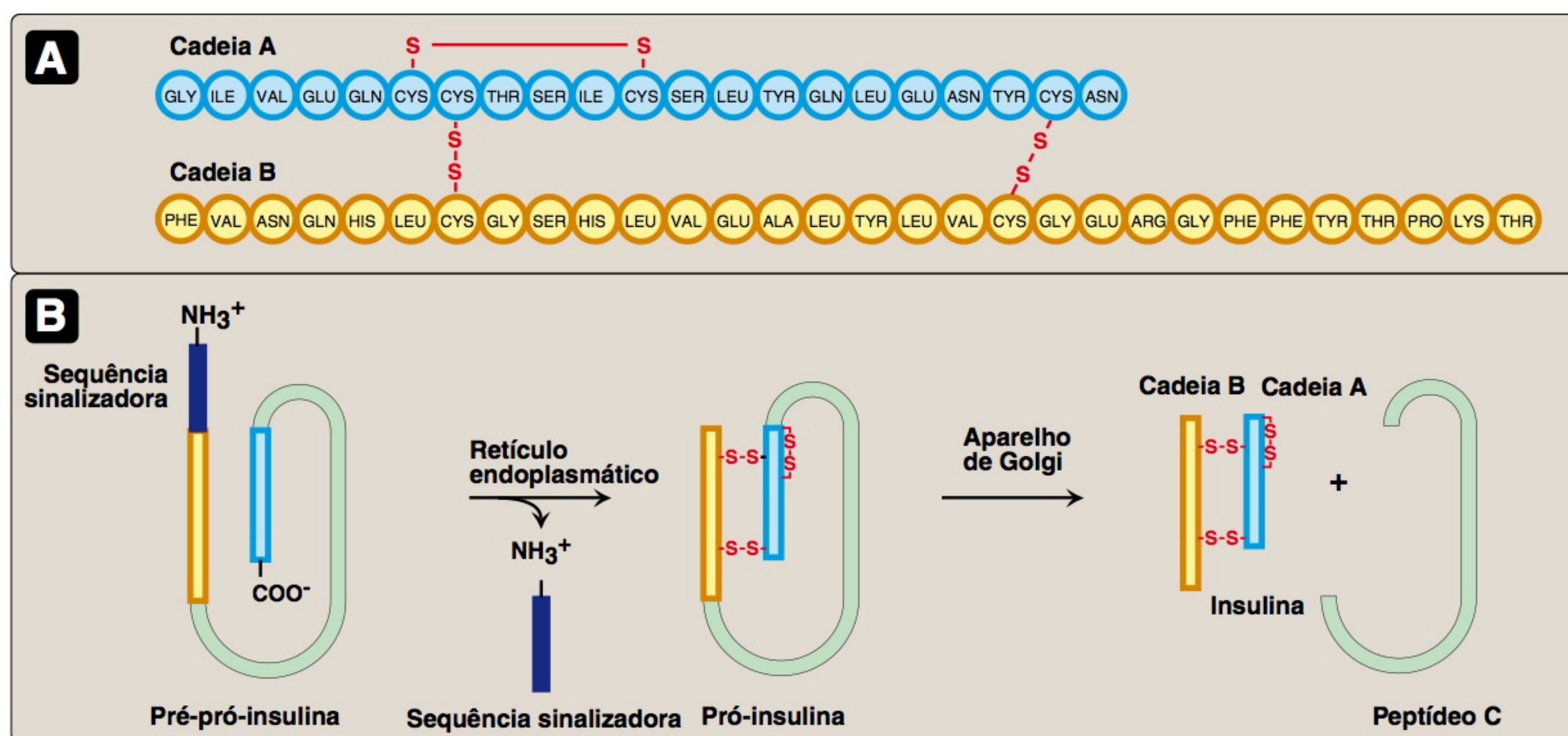
Ilhotas de Langerhans.

A. Estrutura da insulina

A insulina é composta por 51 aminoácidos arranjados em duas cadeias polipeptídicas, designadas A e B, as quais estão unidas por duas ligações dissulfeto (Figura 23.3A). A molécula de insulina também contém uma ligação dissulfeto intramolecular entre resíduos de aminoácidos da cadeia A. (Nota: a insulina bovina difere da humana em três posições de aminoácidos, ao passo que a insulina porcina varia em apenas uma posição. Quando essas insulinas são usadas em humanos para o tratamento de diabetes, podem ser desenvolvidos anticorpos pelo paciente contra as duas proteínas não humanas. Esse problema tem sido eliminado com o uso de insulina humana recombinante [veja a p. 470].)

B. Síntese de insulina

O processamento e o transporte de intermediários que ocorrem durante a síntese de insulina são mostrados nas Figuras 23.3B e 23.4. Note que a biossíntese envolve dois precursores inativos, a pré-pró-insulina e a pró-insulina, que são clivados sequencialmente para formar o hormônio ativo mais o peptídeo C (veja a Figura 23.4). (Nota: o peptídeo C é essencial para a organização correta da molécula de insulina. Além disso, devido a sua meia-vida mais longa no plasma, o peptídeo C é um bom indicador da produção e da secreção de insulina.) A insulina é estocada em grânulos no citosol, que, com o estímulo apropriado (veja a seguir), são liberados por exocitose. (Veja a p. 166 para uma discussão sobre a síntese de proteínas destinadas para secreção.) A insulina é degradada pela enzima *insulinase*, presente no fígado e, em menor quantidade, nos rins. A insulina possui uma meia-vida plasmática de aproximadamente seis minutos. Essa curta duração de ação permite alterações rápidas nos níveis circulantes desse hormônio.

**Figura 23.3**

A. Estrutura da insulina. B. Formação da insulina humana a partir da pré-pró-insulina.

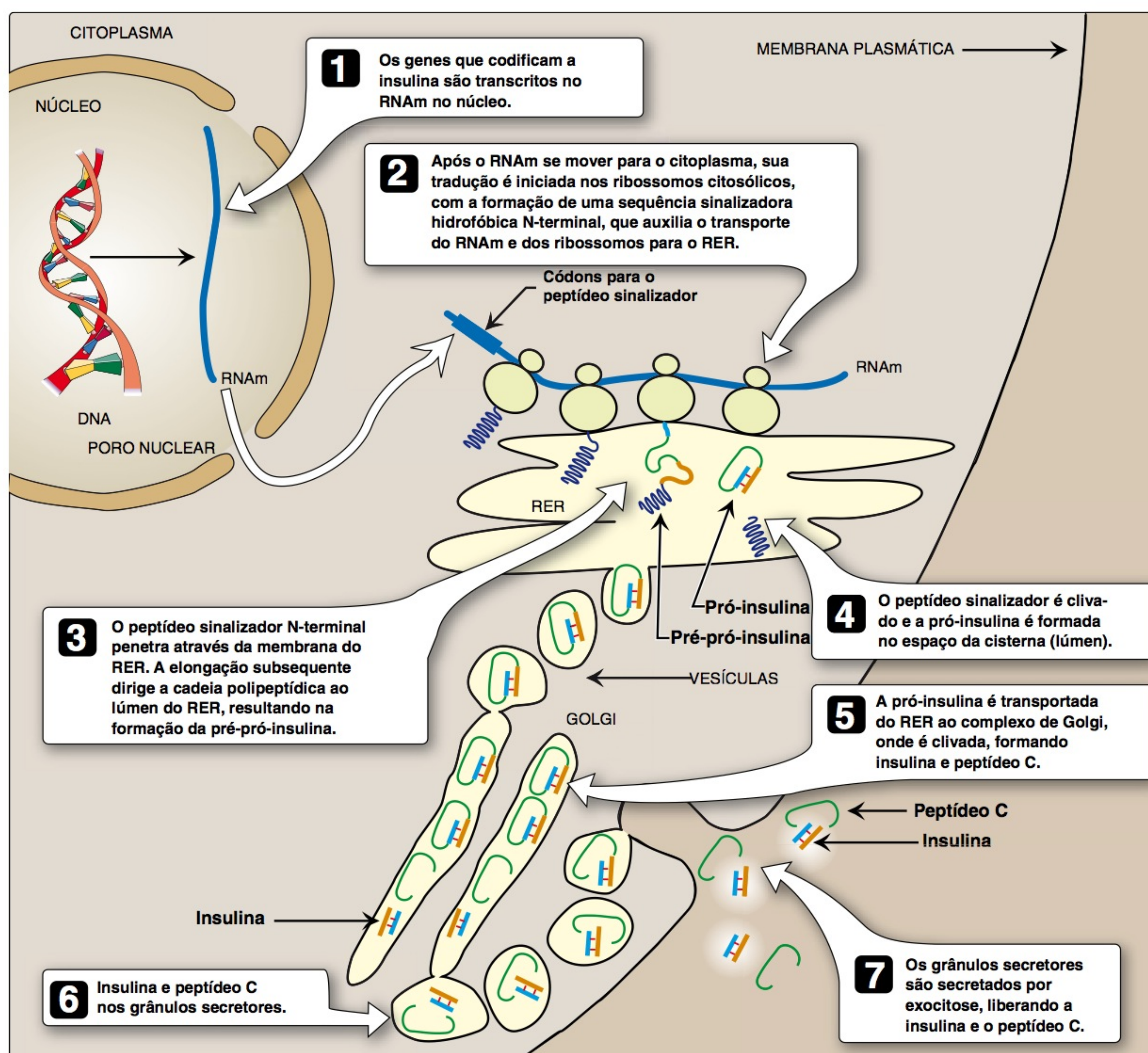


Figura 23.4

Movimentos intracelulares da insulina e de seus precursores. RER = retículo endoplasmático rugoso.

C. Regulação da secreção de insulina

- 1. Estimulação da secreção de insulina.** A secreção da insulina pelas células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas está intimamente coordenada com a liberação do glucagon pelas células α pancreáticas. As quantidades relativas de insulina e glucagon liberadas pelo pâncreas são reguladas de modo que a velocidade de produção hepática da glicose é mantida igual à velocidade de utilização da glicose pelos tecidos periféricos. Em vista do seu papel de coordenadora, não surpreende que a célula β responda a uma variedade de estímulos. Em especial, a secreção de insulina é aumentada por:

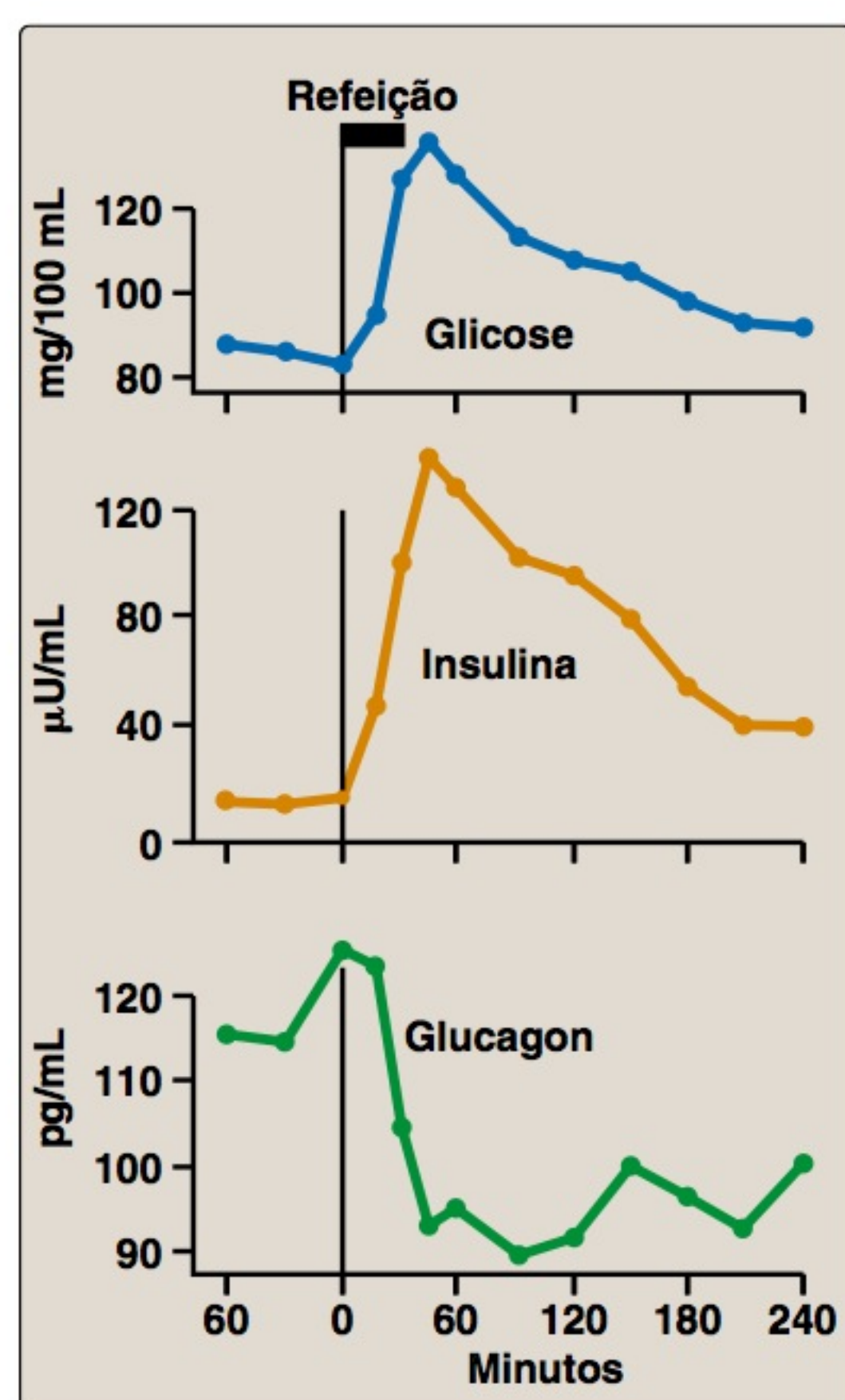


Figura 23.5

Alterações nos níveis sanguíneos de glicose, insulina e glucagon após a ingestão de uma refeição rica em carboidratos.

- a. **Glicose.** As células β são os mais importantes sensores corporais de glicose. Assim como o fígado, as células β possuem transportadores de glicose do tipo GLUT-2 (veja a p. 97) e apresentam atividade *glicocinase* (veja a p. 98), e, portanto, podem fosforilar a glicose em quantidades proporcionais à sua concentração sanguínea real. A ingestão de glicose ou de uma refeição rica em carboidratos leva a um aumento na glicose sanguínea, o que é um sinal para um aumento na secreção de insulina (assim como para diminuição na síntese e liberação de glucagon, Figura 23.5). A glicose é o estímulo mais importante para a secreção de insulina. (Nota: a glicose também favorece a expressão do gene da insulina.)
- b. **Aminoácidos.** A ingestão de proteínas causa um aumento transitório nos níveis plasmáticos de aminoácidos, os quais, por sua vez, induzem imediata secreção de insulina. A arginina plasmática elevada, por exemplo, estimula a secreção de insulina.
- c. **Hormônios gastrintestinais.** A maioria dos hormônios gastrintestinais estimula a liberação de insulina. Os peptídeos intestinais colecistocinina e o polipeptídeo inibitório gástrico (peptídeo insulínico dependente de glicose) aumentam a secreção de insulina em resposta à glicose oral e por causa disso, são chamados de “incretinas”. Esses hormônios são liberados pelo intestino delgado após a ingestão de alimentos e causam um aumento antecipatório nos níveis de insulina. Isso pode ser responsável pelo fato de que a mesma quantidade de glicose administrada por via oral induz uma secreção muito maior de insulina do que a administrada por via intravenosa.

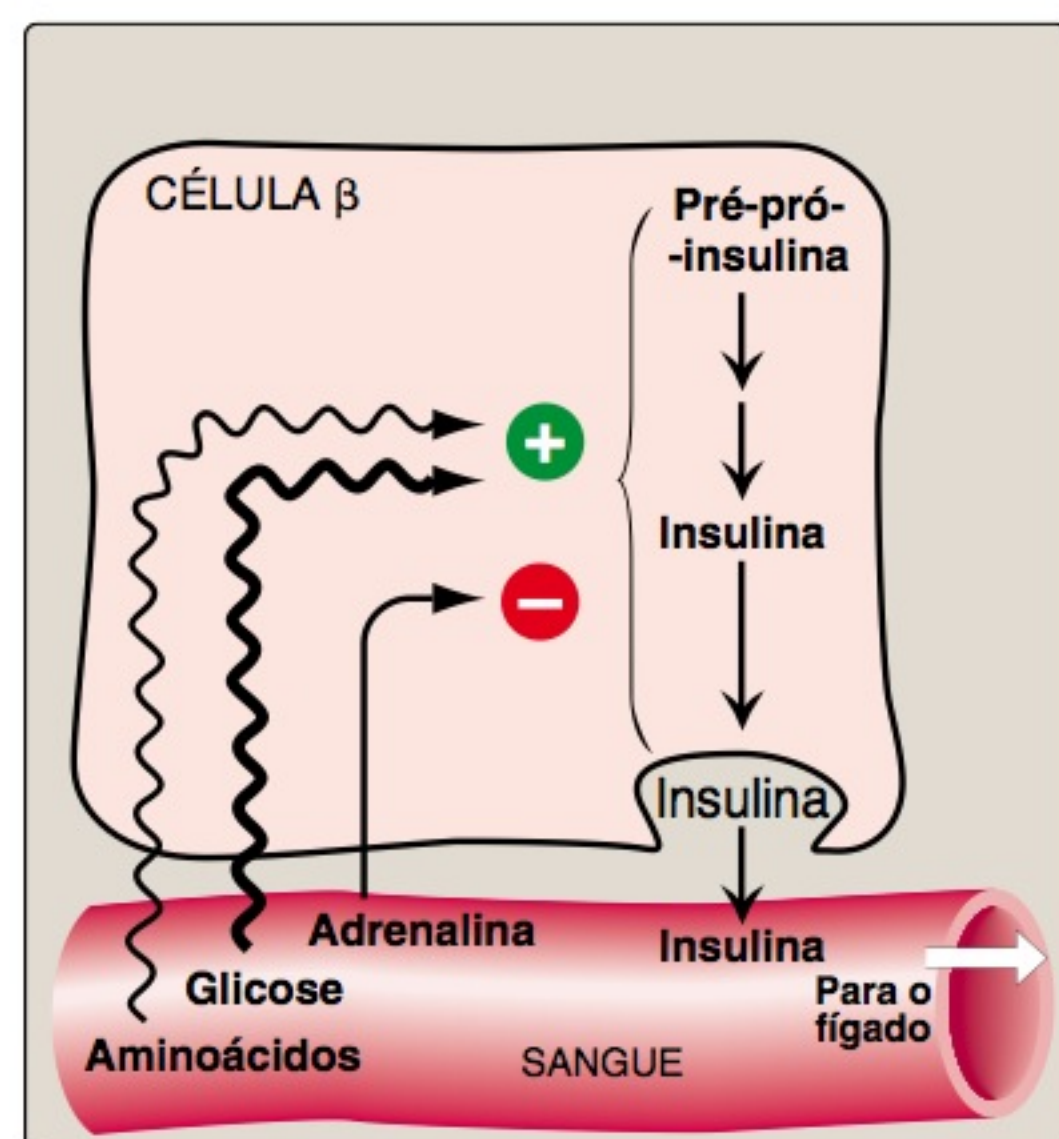
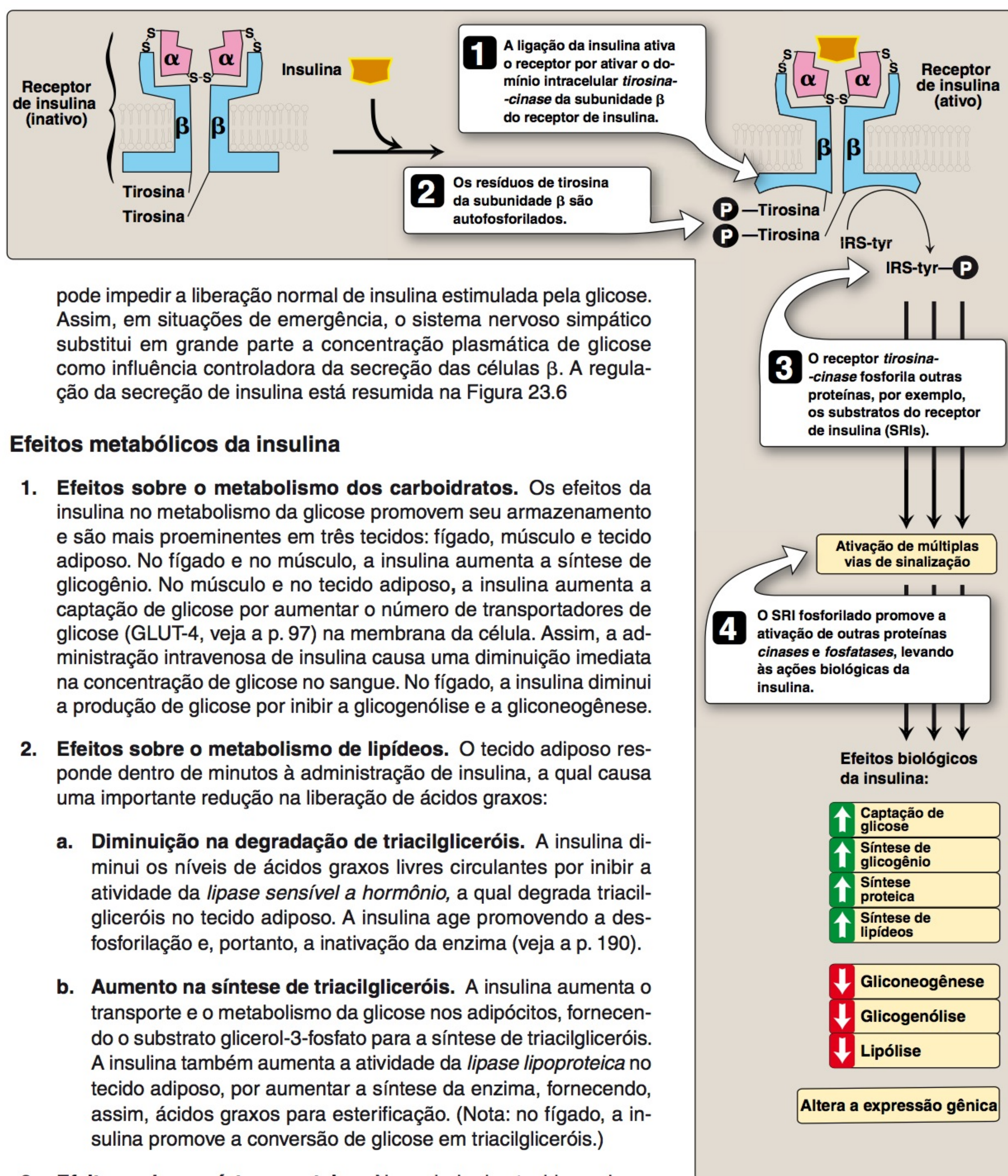


Figura 23.6

Regulação da liberação da insulina pelas células β pancreáticas.

A liberação de insulina dependente de glicose na corrente sanguínea é mediada por aumento na concentração de cálcio na célula β . A glicose captada pela célula β é metabolizada, com formação subsequente de ATP, que, por sua vez, causa fechamento dos canais de potássio sensíveis a ATP, despolarização da membrana plasmática, ativação dos canais de cálcio operados por voltagem e, finalmente, influxo de cálcio para a célula. O cálcio promove liberação pelas células β de insulina contida nas vesículas. As sulfonilureias, compostos de uso oral empregados para tratar diabetes tipo 2, aumentam a secreção de insulina fechando canais de potássio sensíveis a ATP.

2. **Inibição da secreção de insulina.** A síntese e a liberação de insulina estão diminuídas quando existe escassez de combustíveis da dieta e também durante períodos de estresse (p. ex., febre ou infecção). Esses efeitos são mediados principalmente pela adrenalina, que é secretada pela medula adrenal em resposta ao estresse, ao trauma ou ao exercício intenso. Nessas condições, a liberação de adrenalina é controlada especialmente pelo sistema nervoso. A adrenalina possui um efeito direto sobre o metabolismo energético, causando uma mobilização rápida de combustíveis produtores de energia, incluindo a glicose hepática (produzida pela glicogenólise ou pela gliconeogênese, veja a p. 121) e os ácidos graxos provenientes do tecido adiposo (veja a p. 189). Além disso, a adrenalina



pode impedir a liberação normal de insulina estimulada pela glicose. Assim, em situações de emergência, o sistema nervoso simpático substitui em grande parte a concentração plasmática de glicose como influência controladora da secreção das células β . A regulação da secreção de insulina está resumida na Figura 23.6

D. Efeitos metabólicos da insulina

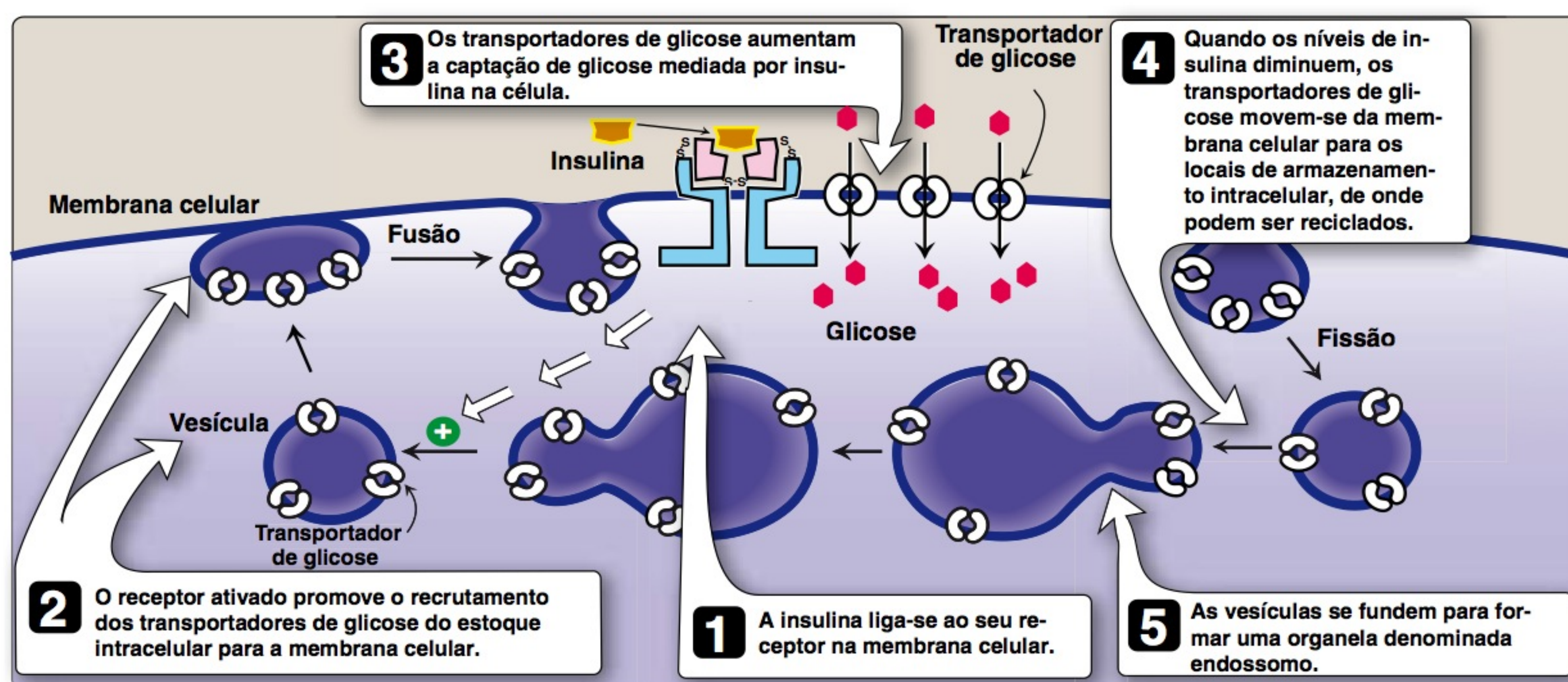
- Efeitos sobre o metabolismo dos carboidratos.** Os efeitos da insulina no metabolismo da glicose promovem seu armazenamento e são mais proeminentes em três tecidos: fígado, músculo e tecido adiposo. No fígado e no músculo, a insulina aumenta a síntese de glicogênio. No músculo e no tecido adiposo, a insulina aumenta a captação de glicose por aumentar o número de transportadores de glicose (GLUT-4, veja a p. 97) na membrana da célula. Assim, a administração intravenosa de insulina causa uma diminuição imediata na concentração de glicose no sangue. No fígado, a insulina diminui a produção de glicose por inibir a glicogenólise e a gliconeogênese.
- Efeitos sobre o metabolismo de lipídeos.** O tecido adiposo responde dentro de minutos à administração de insulina, a qual causa uma importante redução na liberação de ácidos graxos:
 - Diminuição na degradação de triacilgliceróis.** A insulina diminui os níveis de ácidos graxos livres circulantes por inibir a atividade da *lipase sensível a hormônio*, a qual degrada triacilgliceróis no tecido adiposo. A insulina age promovendo a desfosforilação e, portanto, a inativação da enzima (veja a p. 190).
 - Aumento na síntese de triacilgliceróis.** A insulina aumenta o transporte e o metabolismo da glicose nos adipócitos, fornecendo o substrato glicerol-3-fosfato para a síntese de triacilgliceróis. A insulina também aumenta a atividade da *lipase lipoproteica* no tecido adiposo, por aumentar a síntese da enzima, fornecendo, assim, ácidos graxos para esterificação. (Nota: no fígado, a insulina promove a conversão de glicose em triacilgliceróis.)
- Efeitos sobre a síntese proteica.** Na maioria dos tecidos, a insulina estimula a entrada de aminoácidos nas células e a síntese de proteínas. (Nota: a insulina estimula a síntese proteica por meio da ativação de fatores necessários para a tradução.)

E. Mecanismo de ação da insulina

A insulina liga-se a receptores específicos de alta afinidade na membrana celular da maioria dos tecidos, incluindo o fígado, o músculo e o tecido adiposo. Esse é o primeiro passo em uma cascata de reações, levando finalmente a um conjunto de ações biológicas diversas (Figura 23.7).

Figura 23.7

Receptor de insulina. SRI = substrato do receptor de insulina.

**Figura 23.8**

A insulina causa o recrutamento dos transportadores de glicose (GLUT) de estoques intracelulares nos músculos cardíaco e esquelético e no tecido adiposo.

	Transporte ativo	Transporte facilitado
Sensível à insulina		Músculos esquelético e cardíaco e tecido adiposo (juntos, representam a maior massa tecidual)
Insensível à insulina	Epitélio do intestino Túbulos renais Plexo coróide	Eritrócitos Leucócitos Cristalino Córnea Fígado Encéfalo

Figura 23.9

Características do transporte de glicose em vários tecidos.

- 1. Receptor de insulina.** O receptor de insulina é sintetizado como um polipeptídeo único, que é glicosilado e clivado em subunidades α e β , as quais são, então, reunidas em um tetrâmero unido por ligações dissulfeto (veja a Figura 23.7). Um domínio hidrofóbico em cada subunidade β atravessa a membrana plasmática. A subunidade α extracelular contém o sítio de ligação da insulina. O domínio citosólico da subunidade β é uma *tirosina-cinase*, a qual é ativada pela insulina.
- 2. Transdução de sinal.** A ligação da insulina às subunidades α do receptor de insulina induz alterações conformacionais que irão atingir as subunidades β . Isso promove uma rápida autofosforilação de um resíduo específico de tirosina em cada subunidade β (veja a Figura 23.7). A autofosforilação inicia uma cascata de respostas de sinalização celular, incluindo a fosforilação de uma família de proteínas denominadas proteínas substratos do receptor de insulina (SRI). Já foram identificados pelo menos quatro SRI, as quais apresentam estruturas similares, mas diferente distribuição tecidual. As proteínas SRI fosforiladas interagem com outras moléculas sinalizadoras por meio de domínios específicos, ativando vias que afetam a expressão gênica, o metabolismo e o crescimento celular. As ações da insulina são encerradas pela desfosforilação do receptor.
- 3. Efeitos da insulina na membrana.** Na presença da insulina, o transporte da glicose aumenta em alguns tecidos, como o músculo esquelético e os adipócitos (Figura 23.8). A insulina promove o recrutamento de transportadores de glicose sensíveis à insulina (GLUT-4), provenientes de um estoque localizado em vesículas intracelulares. (Nota: muitos tecidos possuem sistemas insensíveis à insulina para o transporte de glicose [Figura 23.9]. Por exemplo, hepatócitos, eritrócitos e células do sistema nervoso, da mucosa intestinal, dos túbulos renais e da córnea não requerem insulina para a captação de glicose.)
- 4. Regulação do receptor.** A ligação de insulina é seguida pela internalização do complexo hormônio-receptor. Uma vez dentro da cé-

lula, a insulina é degradada nos lisossomos. Os receptores podem ser degradados, mas a maioria é reciclada para a superfície celular. (Nota: níveis elevados de insulina promovem a degradação dos receptores, diminuindo assim o número de receptores na superfície. Esse é um tipo de “regulação por subsensibilização”).

5. **Curso temporal das ações da insulina.** A ligação da insulina provoca uma ampla variedade de ações. A resposta mais imediata é um aumento no transporte de glicose para dentro dos adipócitos e das células do músculo esquelético, que ocorre dentro de segundos após a ligação da insulina aos seus receptores de membrana. As alterações na atividade enzimática induzidas pela insulina em muitos tipos de células ocorrem dentro de minutos a horas e refletem alterações no estado de fosforilação de proteínas existentes. A insulina também desencadeia um aumento na quantidade de muitas enzimas, como a *glicocinase*, a *piruvato-cinase* hepática, a *acetil-CoA-carboxilase* e a *ácido graxo-sintase*, que requer horas a dias. Essas alterações refletem um aumento na expressão gênica, por meio do aumento da transcrição (mediada pela proteína ligadora do elemento de resposta a esteróis 1 – PLER-1, veja a p.184) e da tradução.

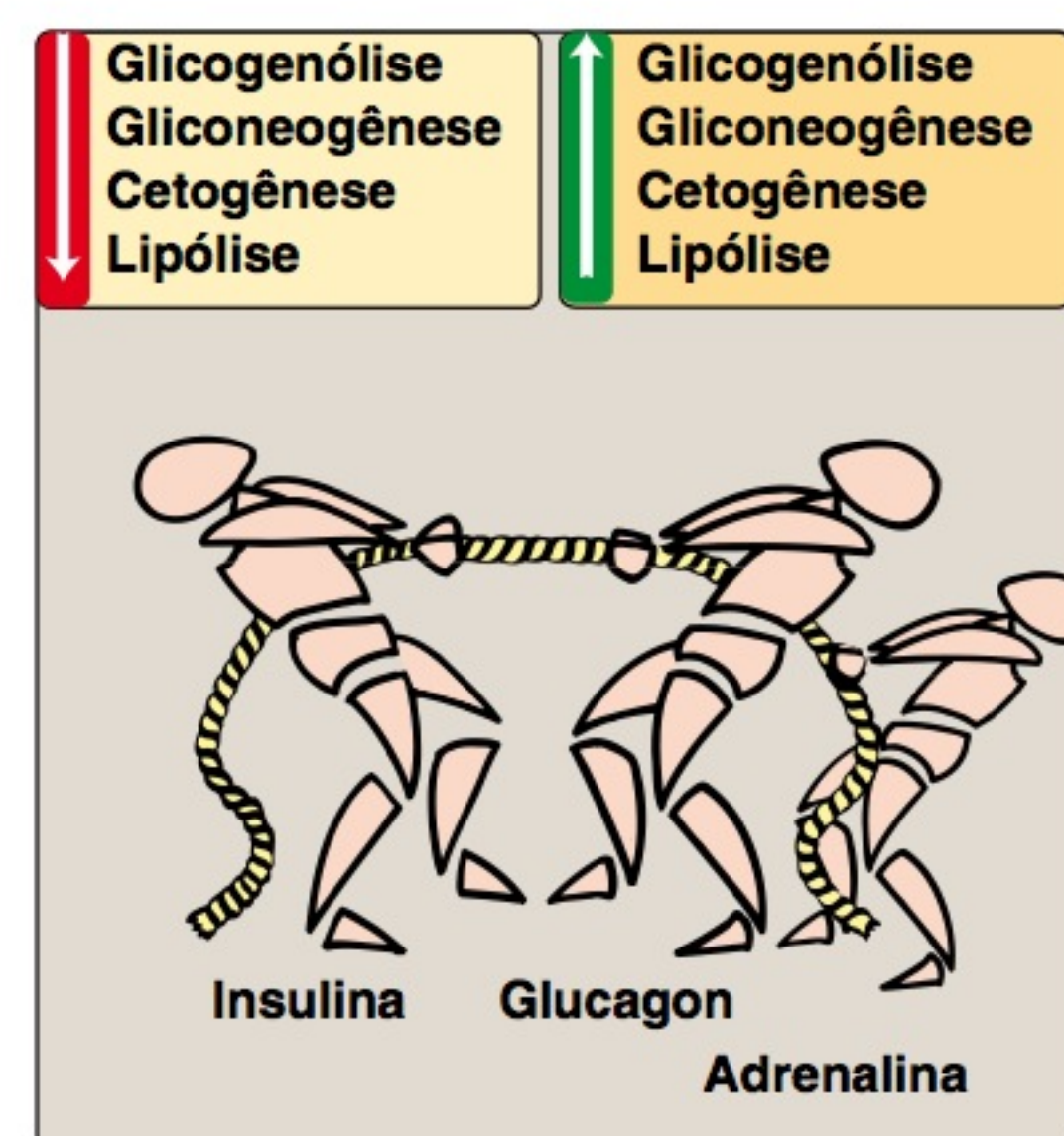


Figura 23.10

Ações da insulina, em oposição às do glucagon e da adrenalina.

III. GLUCAGON

O glucagon é um hormônio polipeptídico secretado pelas células α das ilhotas de Langerhans pancreáticas. O glucagon, juntamente com a adrenalina, o cortisol e o hormônio do crescimento (os “hormônios contrarreguladores”), se opõe a muitas das ações da insulina (Figura 23.10). Em especial, o glucagon age na manutenção dos níveis de glicose sanguínea, pela ativação da glicogenólise e da gliconeogênese hepáticas. O glucagon é composto por 29 aminoácidos arranjados em uma única cadeia polipeptídica. (Nota: ao contrário da insulina, a sequência de aminoácidos no glucagon é a mesma em todas as espécies de mamíferos examinadas até o momento.) O glucagon é sintetizado como uma grande molécula precursora (pré-pró-glucagon), que é convertida no glucagon por meio de uma série de clivagens proteolíticas seletivas, similares àquelas descritas na biossíntese da insulina (veja a Figura 23.3). Ao contrário da insulina, o pré-pró-glucagon origina vários produtos em diferentes tecidos.

A. Estimulo da secreção de glucagon

A célula α é responsiva a uma variedade de estímulos que sinalizam uma hipoglicemia real ou potencial (Figura 23.11). Especificamente, a secreção do glucagon é aumentada por:

1. **Glicemia baixa.** Uma diminuição na concentração plasmática de glicose é o principal estímulo para a liberação de glucagon. Durante um jejum noturno ou prolongado, os níveis elevados de glucagon previnem a hipoglicemia (veja a seguir a discussão sobre hipoglicemia).
2. **Aminoácidos.** Os aminoácidos provenientes de uma refeição que contém proteínas estimulam a liberação de glucagon e de insulina. O glucagon impede efetivamente a hipoglicemia, que de outra forma ocorreria como resultado da secreção aumentada de insulina após uma refeição rica em proteínas.
3. **Adrenalina.** Níveis elevados de adrenalina circulante, produzida pela medula adrenal, ou de noradrenalina, produzida pela iner-

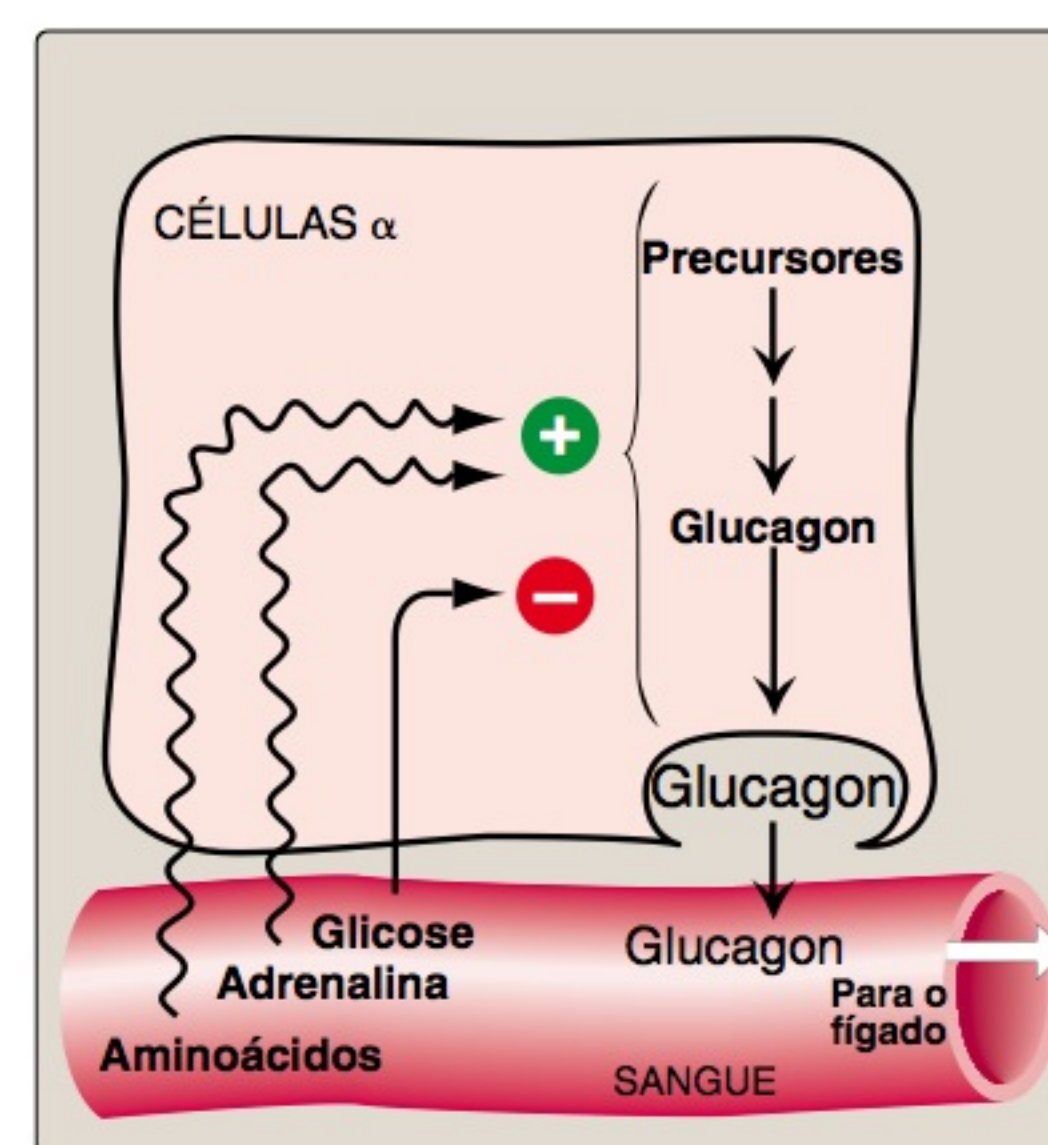
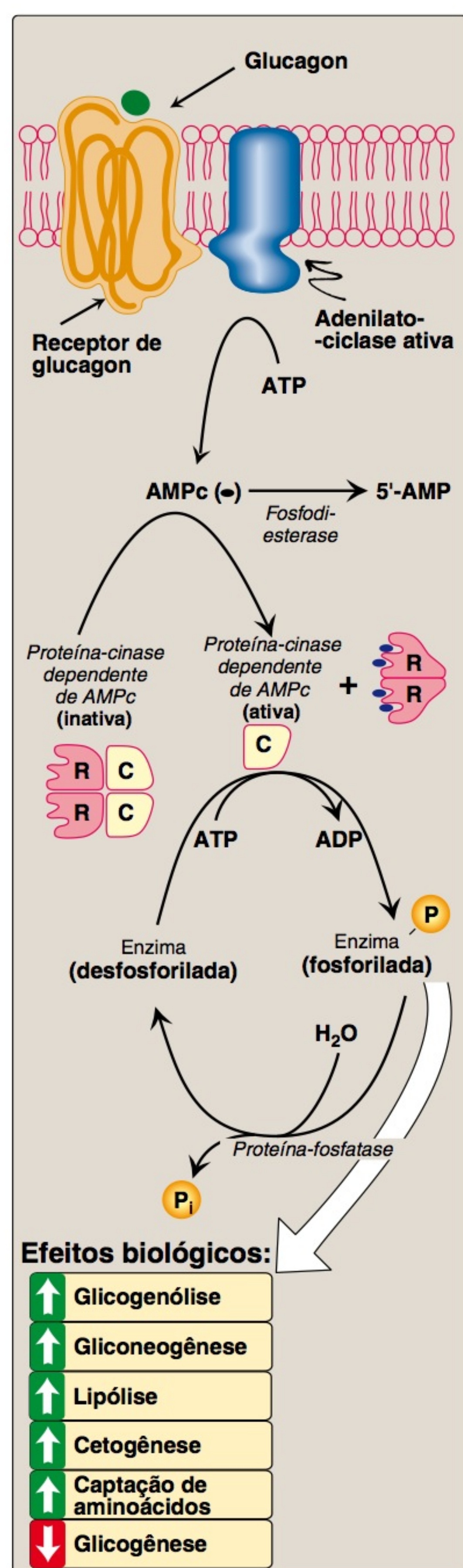


Figura 23.11

Regulação da liberação de glucagon pelas células α pancreáticas. (Nota: os aminoácidos aumentam a liberação de insulina e de glucagon, ao passo que a glicose aumenta apenas a liberação de insulina.)

**Figura 23.12**

Mecanismo de ação do glucagon. (Nota: para simplificar, a ativação da *adenilato-ciclase* pela proteína G foi omitida.) R = Subunidade reguladora; C = subunidade catalítica.

vação simpática do pâncreas, ou de ambas, estimulam a liberação de glucagon. Assim, durante períodos de estresse, trauma ou exercício intenso, os níveis elevados de adrenalina podem sobrepor-se aos efeitos dos substratos circulantes sobre as células α . Nessas situações – independentemente da concentração de glicose no sangue – os níveis de glucagon se elevam em antecipação ao aumento na utilização de glicose. Em contraste, os níveis de insulina são reduzidos.

B. Inibição da secreção de glucagon

A secreção de glucagon diminui significativamente com o aumento de glicose e de insulina no sangue. Essas substâncias estão aumentadas após a ingestão de glicose ou de uma refeição rica em carboidratos (veja a Figura 23.5). A regulação da secreção do glucagon está resumida na Figura 23.11.

C Efeitos metabólicos do glucagon

- Efeitos sobre o metabolismo dos carboidratos.** A administração intravenosa de glucagon leva a um aumento imediato na glicemia. Isso resulta de um aumento na degradação do glicogênio hepático (não do muscular) e de um aumento na gliconeogênese.
- Efeitos sobre o metabolismo dos lipídeos.** O glucagon ativa a lipólise no tecido adiposo. Os ácidos graxos liberados são captados pelo fígado e oxidados a acetil-coenzima A, a qual é usada para a síntese de corpos cetônicos. (Nota: as catecolaminas também ativam a lipólise.)
- Efeitos sobre o metabolismo proteico.** O glucagon aumenta a captação de aminoácidos pelo fígado, resultando em aumento na disponibilidade de esqueletos carbonados para a gliconeogênese. Como consequência, os níveis plasmáticos de aminoácidos estão diminuídos.

D. Mecanismo de ação do glucagon

O glucagon liga-se a receptores de alta afinidade acoplados à proteína G na membrana celular do hepatócito. Os receptores para glucagon são diferentes dos que ligam insulina ou adrenalina. (Nota: os receptores de glucagon não são encontrados no músculo esquelético.) A ligação do glucagon resulta na ativação da *adenilato-ciclase* na membrana plasmática (Figura 23.12, e veja a p. 94). Isso causa um aumento no AMPc (o “segundo mensageiro”), o qual, por sua vez, ativa a *proteína-quinase dependente de AMPc* e aumenta a fosforilação de enzimas ou outras proteínas específicas. Essa cascata de atividades enzimáticas crescentes resulta na ativação ou inibição mediadas por fosforilação de enzimas-chave reguladoras, envolvidas no metabolismo dos carboidratos e dos lipídeos. Um exemplo desse tipo de cascata é apresentado no caso da degradação do glicogênio na Figura 11.9, p. 131, e na p. 132. (Nota: o glucagon também afeta a transcrição gênica.)

IV. HIPOGLICEMIA

A hipoglicemia é caracterizada por 1) sintomas do sistema nervoso central (SNC), incluindo confusão, comportamento atípico ou coma; 2) simultaneamente, nível de glicose sanguínea igual ou inferior a 40 mg/dL; e 3) sintomas resolvidos em minutos após a administração de glicose (Figura 23.13).

A hipoglicemia é uma emergência médica, pois o SNC apresenta absoluta necessidade de suprimento contínuo de glicose sanguínea para servir como combustível para o metabolismo energético. Uma hipoglicemia transitória pode causar disfunção cerebral, ao passo que uma hipoglicemia grave e prolongada causa morte cerebral. Assim, não surpreende que o corpo possua múltiplos mecanismos sobrepostos para prevenir ou corrigir a hipoglicemia. As alterações hormonais mais importantes no combate à hipoglicemia são a elevação de glucagon e adrenalina, juntamente com a diminuição na liberação de insulina.

A. Sintomas de hipoglicemia

Os sintomas de hipoglicemia podem ser divididos em duas categorias. Os sintomas adrenérgicos – ansiedade, palpitação, tremor e sudorese – são mediados pela liberação de adrenalina regulada pelo hipotálamo em resposta à hipoglicemia. Normalmente, os sintomas adrenérgicos (i. e., sintomas mediados por adrenalina elevada) ocorrem quando os níveis de glicose sanguínea caem bruscamente. A segunda categoria de sintomas hipoglicêmicos é neuroglicopênica. A neuroglicopenia – diminuição na chegada de glicose no encéfalo – resulta em prejuízo da função cerebral, causando cefaleia, confusão, fala arrastada, convulsões, coma e morte. Os sintomas neuroglicopênicos resultam com frequência de um declínio gradual de glicose sanguínea, geralmente para níveis inferiores a 40 mg/dL. O declínio lento na glicose priva o SNC de combustível, mas falha em disparar uma resposta adequada da adrenalina.

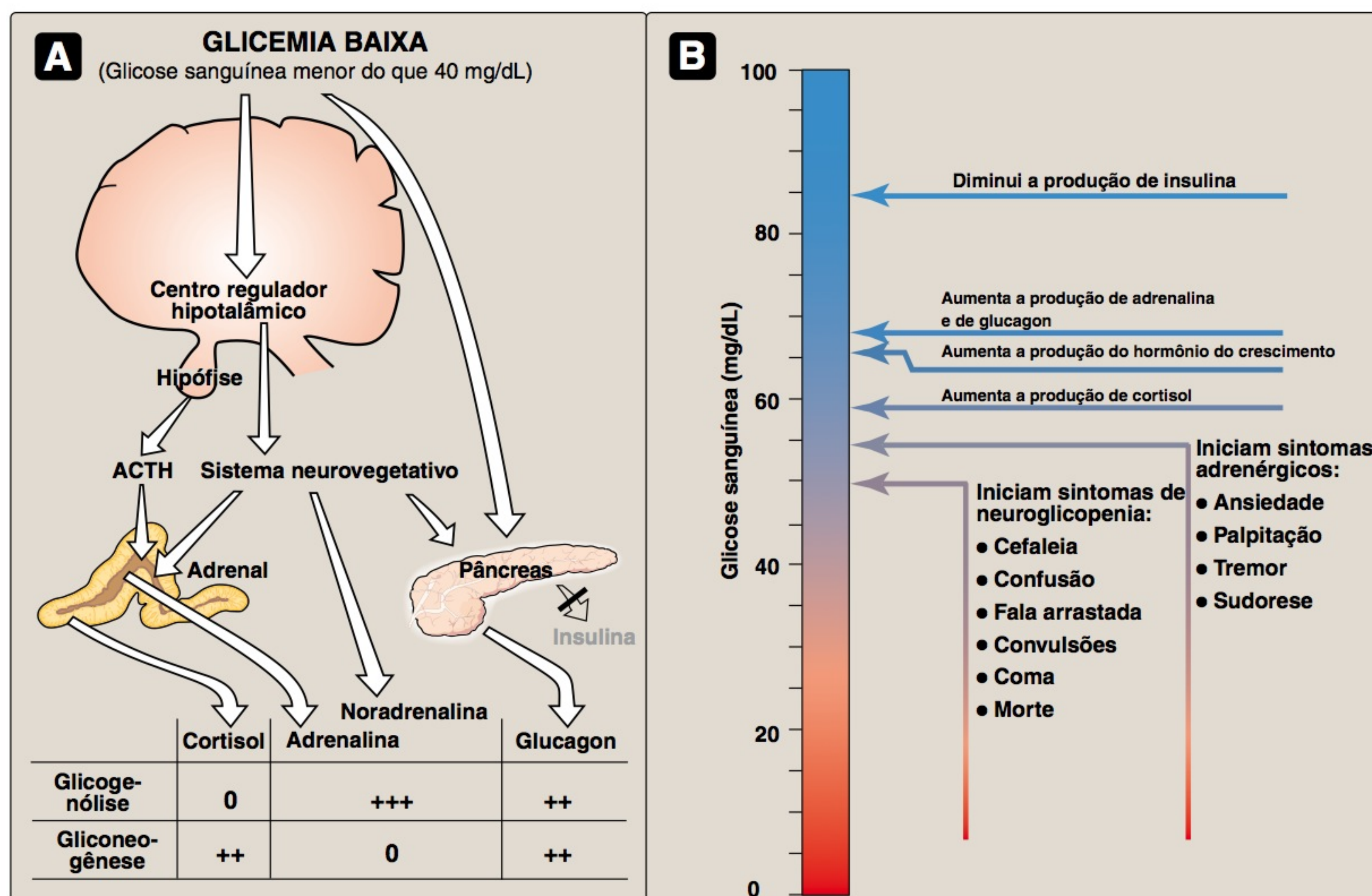


Figura 23.13

A. Ações de alguns hormônios glicorreguladores em resposta à glicemia baixa. B. Limiares glicêmicos para diversas respostas à hipoglicemia. + = Estímulo fraco; ++ = estímulo moderado; +++ = estímulo forte; 0 = sem efeito. (Nota: a faixa da glicemia normal em jejum é de 70-99 mg/100 mL.)

B. Sistemas glicorreguladores

O ser humano possui dois sistemas sobrepostos de regulação da glicose que são ativados por hipoglicemia: 1) as ilhotas de Langerhans, que liberam glucagon, e 2) os receptores no hipotálamo, que respondem a concentrações anormalmente baixas de glicose no sangue. Os glicorreceptores hipotalâmicos podem disparar tanto a secreção de adrenalina (mediada pelo sistema neurovegetativo) quanto a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e do hormônio do crescimento pela hipófise anterior (veja a Figura 23.13). (Nota: o ACTH aumenta a síntese e a secreção de cortisol pelo córtex adrenal [veja na p. 239].) Os hormônios glucagon, adrenalina, cortisol e hormônio do crescimento são algumas vezes denominados hormônios “contrarreguladores”, pois cada um deles se opõe à ação da insulina sobre a utilização da glicose.

1. **Glucagon e adrenalina.** A hipoglicemia é combatida pela diminuição na liberação de insulina e pelo aumento na secreção de glucagon, adrenalina, cortisol e hormônio do crescimento (veja a Figura 23.13). O glucagon e a adrenalina são os hormônios mais importantes na regulação aguda e a curto prazo da glicemia. O glucagon estimula a glicogenólise e a gliconeogênese hepáticas. A adrenalina promove a glicogenólise e a lipólise, inibe a secreção de insulina e inibe a captação de glicose mediada por insulina nos tecidos periféricos. A adrenalina normalmente não é essencial para combater a hipoglicemia, mas pode assumir um papel crítico quando a secreção do glucagon está deficiente, por exemplo, nos estágios tardios do diabetes melito tipo 1 (antigamente chamado dependente de insulina) (veja a p. 340). A prevenção ou correção da hipoglicemia falha quando as secreções de ambos, adrenalina e glucagon, estão deficientes.
2. **Cortisol e hormônio do crescimento.** Esses hormônios são menos importantes na manutenção das concentrações de glicose sanguínea a curto prazo. Em vez disso, eles desempenham um papel na coordenação do metabolismo da glicose a longo prazo.

C. Tipos de hipoglicemia

A hipoglicemia pode ser dividida em três tipos: 1) induzida por insulina; 2) pós-prandial (algumas vezes denominada hipoglicemia reativa); e 3) hipoglicemia de jejum. (Nota: a intoxicação alcoólica em indivíduos em jejum também pode estar associada a hipoglicemia.)

1. **Hipoglicemia induzida por insulina.** A hipoglicemia frequentemente ocorre em pacientes diabéticos que recebem tratamento com insulina, em especial naqueles em que há sério empenho na obtenção de um controle rigoroso dos níveis de glicose sanguínea. Uma hipoglicemia leve em pacientes totalmente conscientes é tratada com a administração oral de carboidratos. Os pacientes com hipoglicemia, porém, frequentemente estão inconscientes ou apresentam perda da capacidade para coordenar a deglutição. Nesses casos, o tratamento de escolha é a administração subcutânea ou intramuscular de glucagon (Figura 23.14).
2. **Hipoglicemia pós-prandial.** Essa é a segunda forma mais comum de hipoglicemia. É causada por uma liberação exagerada de insulina após uma refeição, produzindo uma hipoglicemia transitória com leves sintomas adrenérgicos. O nível de glicose plasmática retorna ao normal mesmo se o paciente não for alimentado. Em geral, o único tratamento necessário é que o paciente faça refeições pequenas e frequentes, em vez das três principais refeições diárias.

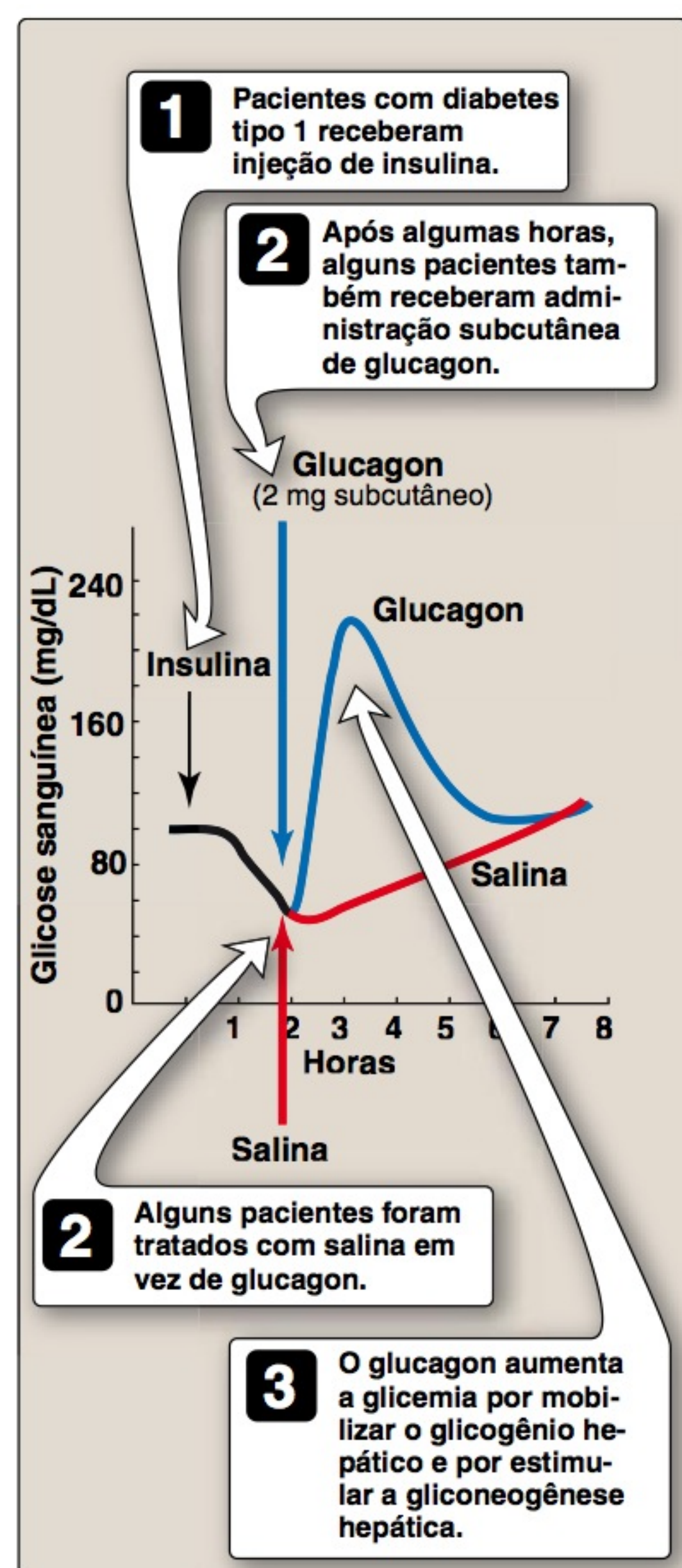


Figura 23.14

Reversão da hipoglicemia induzida por insulina pela administração subcutânea de glucagon.

3. **Hipoglicemia de jejum.** A ocorrência de glicemia diminuída durante o jejum é rara, mas é mais provável que se apresente como um sério problema clínico. A hipoglicemia de jejum, que tende a produzir sintomas de neuroglicopenia, pode resultar de uma redução na velocidade de produção de glicose pela glicogenólise e gliconeogênese hepáticas. Assim, baixos níveis de glicose no sangue são frequentemente observados em pacientes com lesão hepatocelular ou com insuficiência adrenal, ou ainda em indivíduos em jejum que consumiram grandes quantidades de etanol (veja a seguir). Alternativamente, a hipoglicemia de jejum pode resultar da velocidade aumentada na utilização de glicose pelos tecidos periféricos, em função de níveis elevados de insulina resultantes de tumores raros nas células β pancreáticas. Se não tratado, um paciente com hipoglicemia de jejum pode perder a consciência e apresentar convulsões e coma. (Nota: defeitos na oxidação de ácidos graxos também resultam em hipoglicemia.)
4. **Hipoglicemia e intoxicação alcoólica.** O álcool é metabolizado no fígado por duas reações de oxidação (Figura 23.15). O etanol é primeiramente convertido em acetaldeído pela *álcool-desidrogenase*. O acetaldeído é oxidado posteriormente a acetato pela *aldeído-desidrogenase*. (Nota: essa enzima é inibida por dissulfiram, um fármaco que pode ser usado em pacientes que desejam parar de beber álcool. Isso causa o acúmulo de acetaldeído no sangue, resultando em rubor, taquicardia, hiperventilação e náusea.) Em cada reação, elétrons são transferidos para o NAD^+ , resultando em um aumento maciço na concentração de NADH citosólico. A abundância de NADH favorece a redução de piruvato em lactato e de oxalacetato (OAA) em malato. (Nota: o aumento nos níveis de lactato pode resultar em acidose láctica, e como o lactato compete com urato para excreção pelos rins, pode também resultar em hiperuricemia.) Lembre-se, da p. 118, que o piruvato e o oxaloacetato são ambos intermediários na síntese de glicose via gliconeogênese. Assim, o aumento de NADH mediado por etanol faz com que os intermediários da gliconeogênese sejam desviados para vias alternativas de reação, resultando na síntese diminuída de glicose. Isso pode acelerar a hipoglicemia, especialmente em indivíduos que tiveram depleção em seus estoques de glicogênio hepático. (Nota: a reduzida disponibilidade de OAA permite o desvio

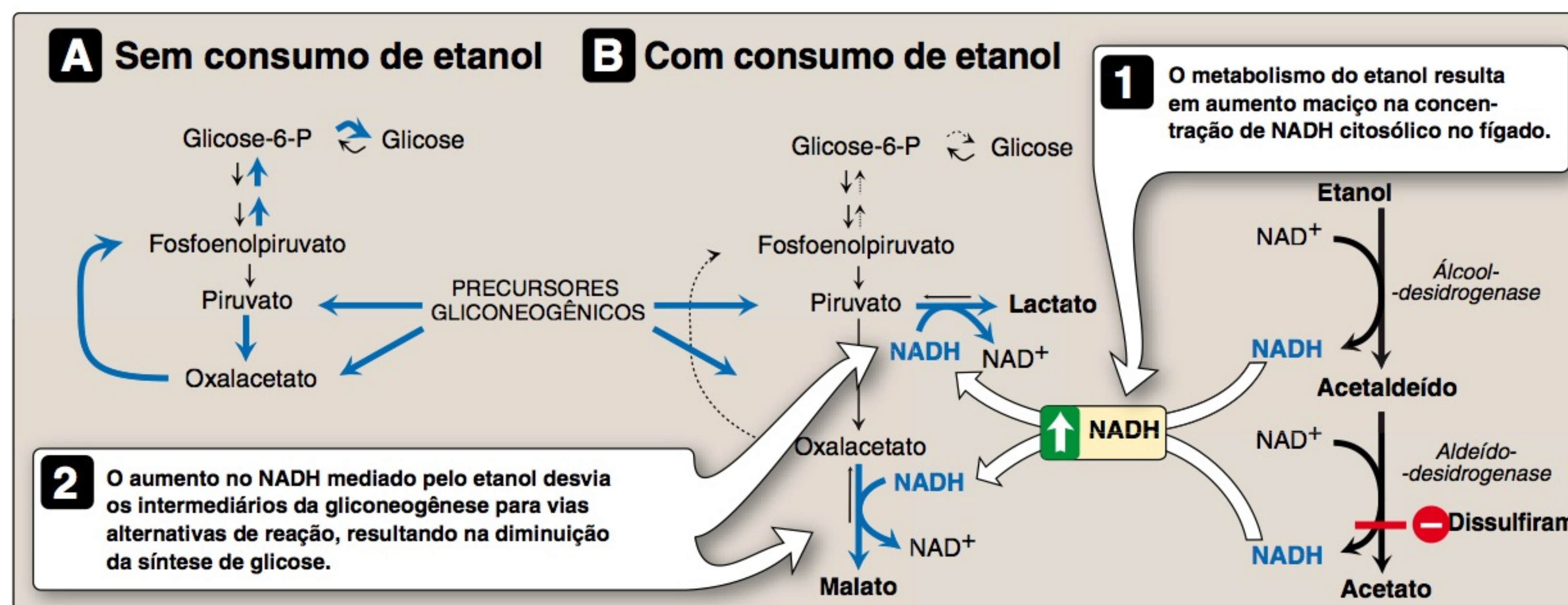


Figura 23.15

A. Gliconeogênese normal na ausência de consumo de etanol. B. Inibição da gliconeogênese como resultado do metabolismo hepático do etanol.



Figura 23.16

Efeitos do consumo crônico de álcool sobre a morfologia hepática.

de acetil-CoA para síntese de corpos cetônicos no fígado [veja a p. 195], e isso pode resultar em cetoacidose alcoólica.) A hipoglicemia pode produzir muitos dos comportamentos associados à intoxicação alcoólica – agitação, prejuízo de julgamento e agressividade. Assim, o consumo de álcool por indivíduos vulneráveis – aqueles em jejum ou que se submeteram a exercício exaustivo e prolongado – pode produzir hipoglicemia, que pode contribuir para os efeitos comportamentais do álcool. O consumo de álcool pode também aumentar o risco de hipoglicemia em pacientes que fazem uso da insulina. Dessa forma, os pacientes que seguem um protocolo de tratamento intensivo com insulina (veja na p. 340) são advertidos acerca do risco aumentado de hipoglicemia, que geralmente ocorre muitas horas depois do consumo de álcool. (Nota: o consumo crônico de álcool pode também resultar em fígado graxo alcoólico, devido ao aumento na síntese de triacilgliceróis. Isso ocorre como resultado da diminuição na oxidação de ácidos graxos, devido à queda na razão $NAD^+/NADH$, e ao aumento na lipogênese, devido à maior disponibilidade de ácidos graxos [catabolismo diminuído] e de gliceraldeído 3-fosfato [a *desidrogenase* é inibida pela baixa razão $NAD^+/NADH$]. Com o consumo continuado de álcool, o fígado graxo pode progredir para hepatite alcoólica, seguida por cirrose alcoólica [Figura 23.16].)

V. RESUMO DO CAPÍTULO

A integração do metabolismo energético é controlada principalmente pela **insulina** e pelas ações que a ela se opõem do **glucagon** e da **adrenalina** (Figura 23.17). Alterações nos níveis circulantes desses hormônios permitem ao organismo estocar energia quando o alimento está disponível em abundância ou dispor da energia estocada, por exemplo, durante “crises de sobrevivência”, como fome, lesão grave e situações de “luta ou fuga”. A **insulina** é um hormônio polipeptídico produzido pelas **células β** das **ilhotas de Langerhans** do pâncreas. Sua biossíntese envolve dois precursores inativos, a **pré-pró-insulina** e a **pró-insulina**, que após clivagens sequenciais formam o hormônio ativo. O aumento na glicemia é o sinal mais importante para uma secreção aumentada de insulina. A síntese e a liberação de insulina são diminuídas pela adrenalina, que é secretada pelo córtex da adrenal em resposta a estresse, trauma ou exercício intenso. A insulina aumenta a captação de glicose (pelo músculo e pelo tecido adiposo) e a síntese de glicogênio, de proteínas e de triacilgliceróis. Essas ações são mediadas pela ligação da insulina na subunidade α do seu receptor, iniciando uma cascata de eventos de sinalização celular, incluindo a fosforilação, pela subunidade β , de uma família de proteínas denominadas **proteínas substrato do receptor de insulina (SRI)**. O glucagon é um hormônio polipeptídico secretado pelas **células α** das ilhotas pancreáticas. O glucagon, juntamente com a adrenalina, o cortisol e o hormônio do crescimento (os “**hormônios contrarreguladores**”), opõe-se a muitas das ações da insulina. O glucagon atua na manutenção da glicemia durante períodos de potencial hipoglicemia. O glucagon aumenta a glicogenólise, a gliconeogênese, a lipólise, a cetogênese e a captação de aminoácidos. A **secreção** do glucagon é **estimulada** por **baixos níveis sanguíneos de glicose**, por **aminoácidos** e **pela adrenalina**. Sua secreção é **inibida** por **níveis elevados de glicose sanguínea** e pela **insulina**. O glucagon liga-se a **receptores acoplados a proteínas G** nos **hepatócitos**. Essa ligação resulta na ativação da **adenilato-ciclase**, a qual produz o segundo mensageiro **AMP cíclico (AMPc)**. A posterior ativação da proteína-quinase dependente de AMPc resulta na ativação ou inibição, mediadas por fosforilação, de enzimas-chave da regulação do metabolismo de carboidratos e de lipídeos. Tanto insulina quanto glucagon modulam a transcrição gênica. A **hipoglicemia** é caracterizada por: 1) sintomas do sistema nervoso central, incluindo confusão, comportamento atípico ou coma; 2) simultaneamente, nível de glicose sanguínea igual ou inferior a 40 mg/dL; e 3) esses sintomas são resolvidos em minutos após a administração de glicose. A hipoglicemia frequentemente ocorre em pacientes em tratamento com insulina, com controle estrito. O consumo e o metabolismo subsequentes do **etanol** inibem a gliconeogênese, ocasionando hipoglicemia em indivíduos com depleção nos estoques de glicogênio hepático. O consumo de álcool pode também aumentar o risco de hipoglicemia em pacientes que fazem uso da insulina. O consumo crônico de álcool pode causar hepatopatia alcoólica.

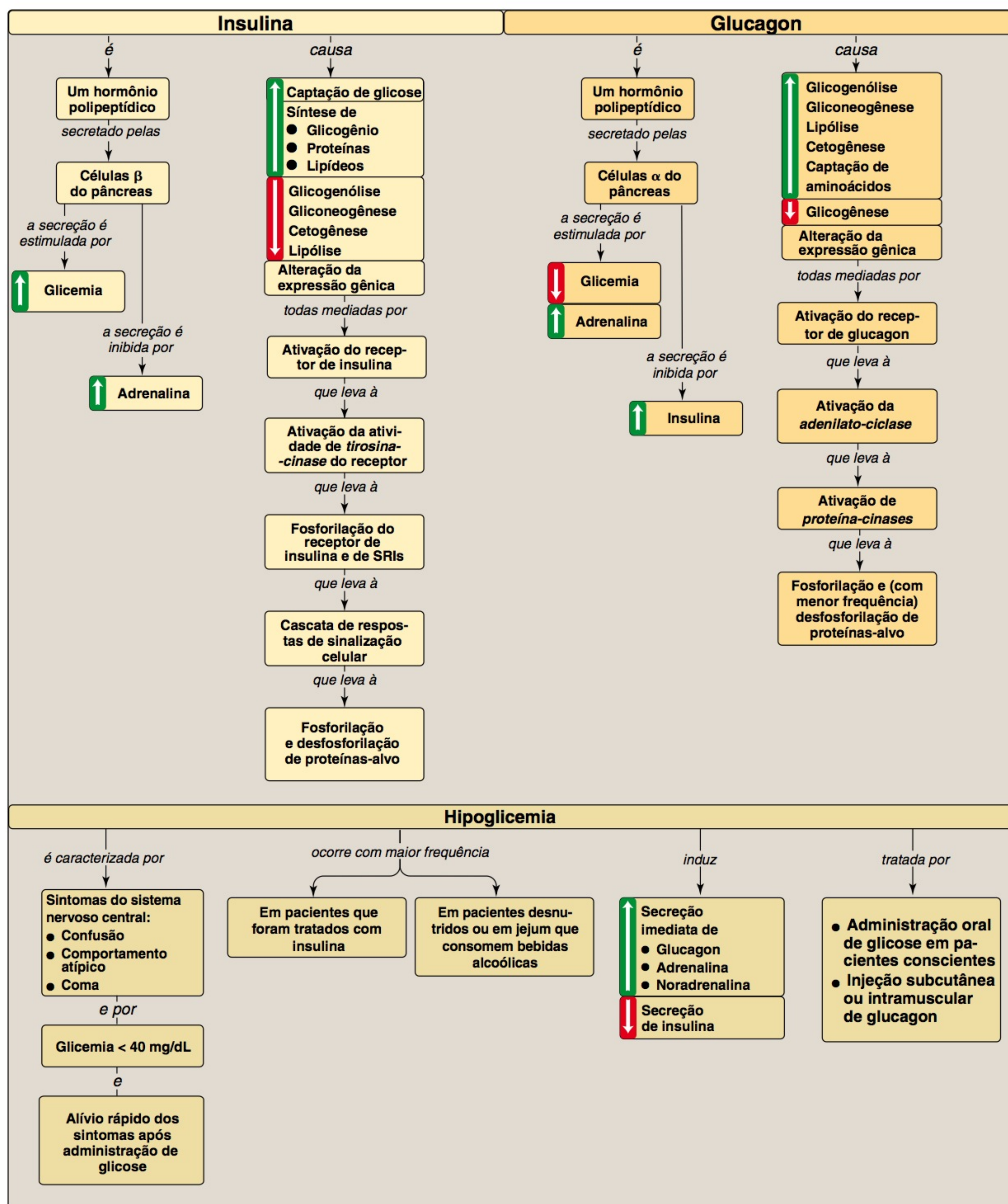


Figura 23.17

Mapa de conceitos-chave para a integração do metabolismo energético.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

23.1 Em qual dos seguintes tecidos o transporte da glicose para dentro da célula é sensível à insulina?

- A. Encéfalo.
- B. Cristalino.
- C. Eritrócitos.
- D. Tecido adiposo.
- E. Fígado.

Resposta correta = D. Os principais tecidos nos quais o transporte de glicose requer insulina são o músculo e o tecido adiposo. O metabolismo hepático responde à insulina, mas o transporte hepático de glicose é determinado pela concentração de glicose no sangue e não requer insulina. Encéfalo, eritrócitos e o cristalino do olho possuem sistemas de captação de glicose independentes da insulina.

23.2 Qual das seguintes condições é característica de níveis baixos de insulina?

- A. A síntese de glicogênio está aumentada.
- B. A gliconeogênese a partir de lactato está diminuída.
- C. A glicogenólise está diminuída.
- D. A formação de 3-hidroxibutirato está aumentada.
- E. A ação da lipase sensível a hormônio está diminuída.

Resposta correta = D. A síntese de 3-hidroxibutirato (ou β -hidroxibutirato) – um corpo cetônico – está aumentada no fígado na ocorrência de baixos níveis de insulina, situação que favorece a ativação da lipase sensível a hormônio e a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo. A síntese de glicogênio está diminuída, ao passo que a gliconeogênese e a glicogenólise estão aumentadas.

23.3 Qual das seguintes afirmações sobre o glucagon está correta?

- A. Altos níveis de glicose sanguínea aumentam a liberação de glucagon pelas células α do pâncreas.
- B. Os níveis de glucagon diminuem após a ingestão de uma refeição rica em proteínas.
- C. O glucagon aumenta os níveis intracelulares de AMP cíclico nas células hepáticas, promovendo um aumento na degradação do glicogênio.
- D. O glucagon é o único hormônio importante no combate à hipoglicemia.
- E. O glucagon reduz a formação de corpos cetônicos pelo fígado.

Resposta correta = C. A cascata do AMP cíclico iniciada pelo glucagon leva à degradação do glicogênio pelo fígado, liberando glicose na corrente sanguínea. Altos níveis de glicose sanguínea diminuem a liberação de glucagon pelas células α do pâncreas. Os níveis de glucagon aumentam após a ingestão de uma refeição rica em proteínas. Juntamente com o glucagon, a adrenalina e o cortisol também são importantes para aumentar a produção de glicose durante a hipoglicemia. O glucagon aumenta a formação de corpos cetônicos pelo fígado.

23.4 Uma mulher de 39 anos é trazida para a sala de emergência queixando-se de tonturas. Ela relata que acordou muito cedo para poder fazer todas as compras que precisava e saiu sem tomar o café da manhã. Ela tomou uma xícara de café no almoço e não comeu nada durante o dia. Às 8 horas da noite ela encontrou com alguns amigos em um bar e tomou um drinque. Pouco depois ela sentiu-se fraca e tonta e foi levada ao hospital. Após ser examinada, a paciente recebeu suco de laranja e imediatamente sentiu-se melhor. Qual das seguintes afirmações melhor completa esta frase? “A paciente tinha:”

- A. glicemia maior do que 70 mg/dL.
- B. insulina elevada.
- C. glucagon elevado.
- D. glicogênio hepático elevado.
- E. presença de um insulinoma.

Resposta correta = C. Os níveis de glucagon da paciente estariam elevados em resposta à hipoglicemia. É mais provável que ela tenha sofrido de uma hipoglicemia de jejum induzida pelo álcool. Espera-se que os níveis de glicose sejam menores ou iguais a 40 mg/dL, que a secreção de insulina esteja diminuída por causa dos níveis reduzidos de glicose, e que os níveis de glicogênio hepático estejam baixos, devido ao jejum. Um insulinoma, um tumor do pâncreas que produz insulina, é improvável.

O Ciclo Alimentado/Jejum

24

I. VISÃO GERAL DO ESTADO ABSORTIVO

O estado absorptivo (alimentado) é o período de duas a quatro horas após uma refeição normal. Durante esse intervalo, ocorre um aumento plasmático transitório de glicose, aminoácidos e triacilgliceróis (TAG), estes últimos principalmente como componentes dos quilomicra sintetizados pelas células da mucosa intestinal (veja a p. 228). O tecido endócrino das ilhotas do pâncreas responde aos níveis elevados de glicose e de aminoácidos com aumento na secreção de insulina e redução na liberação de glucagon. A elevada razão insulina/glucagon e a pronta disponibilidade de substratos circulantes fazem do período absorptivo um período anabólico caracterizado por aumento na síntese de triacilgliceróis e glicogênio (para repor os estoques de combustíveis) e por aumento na síntese proteica. Durante esse período absorptivo, praticamente todos os tecidos utilizam glicose como combustível, e a resposta metabólica corporal é dominada por alterações no metabolismo do fígado, do tecido adiposo, dos músculos e do encéfalo. Neste capítulo, é apresentado um “mapa dos órgãos”, traçando o movimento dos metabólitos entre os tecidos. O objetivo é criar uma visão ampliada e clinicamente útil do metabolismo geral do corpo.

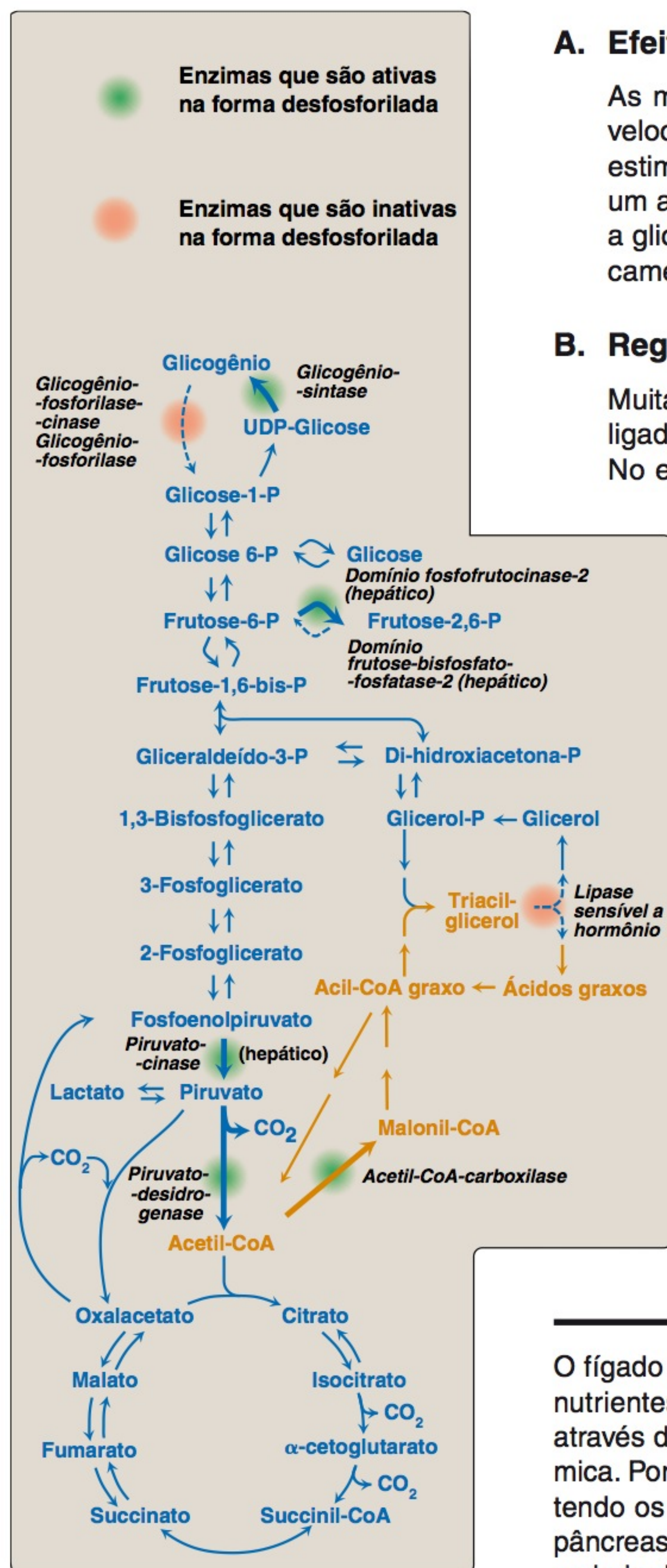
II. AS MUDANÇAS ENZIMÁTICAS NO ESTADO ALIMENTADO

O fluxo de intermediários através das rotas metabólicas é controlado por quatro mecanismos: 1) disponibilidade dos substratos; 2) regulação alostérica das enzimas; 3) modificação covalente das enzimas; 4) indução e repressão da síntese das enzimas, principalmente por regulação da transcrição. Esse esquema pode, à primeira vista, parecer desnecessariamente redundante. Entretanto, cada mecanismo opera em uma escala diferente de tempo (Figura 24.1) e permite ao organismo adaptar-se a uma ampla variedade de situações fisiológicas. No estado alimentado, esses mecanismos reguladores garantem que os substratos disponíveis sejam capturados, formando glicogênio, TAG e proteínas.



Figura 24.1

Mecanismos de controle do metabolismo e alguns tempos típicos de resposta. (Nota: o tempo de resposta pode variar com a natureza do estímulo e de tecido para tecido.)

**Figura 24.2**

Reações importantes do metabolismo intermediário, reguladas por fosforilação enzimática.

Código: **Texto em azul** = intermediários do metabolismo de carboidratos;

Texto em marrom = intermediários do metabolismo de lipídeos.

A. Efeitos alostéricos

As mudanças alostéricas comumente envolvem reações limitantes da velocidade em uma rota metabólica. Por exemplo, a glicólise no fígado é estimulada após uma refeição por um aumento da frutose-2,6-bisfosfato, um ativador alostérico da *fosfofrutocinase-1* (veja a p. 99). Em contraste, a gliconeogênese é inibida pela frutose-2,6-bisfosfato, que inibe alostericamente a *frutose-1,6-bisfosfatase* (veja a p. 121).

B. Regulação das enzimas por modificação covalente

Muitas enzimas são reguladas por adição ou remoção de grupos fosfato ligados a resíduos específicos de serina, treonina e tirosina da proteína. No estado alimentado, a maioria das enzimas reguladas por modificação covalente está na forma desfosforilada e ativa (veja a Figura 24.2). Três exceções são a *glicogênio-fosforilase-cinase* (veja a p. 132), a *glicogênio-fosforilase* (veja a p. 132) e a *lipase sensível a hormônio* do tecido adiposo (veja a p. 190), que estão inativas no estado desfosforilado.

C. Indução e repressão da síntese de enzimas

O aumento (indução) ou decréscimo (repressão) da síntese de enzimas leva a uma alteração na população total de sítios ativos, em vez de afetar a eficiência das enzimas preexistentes. As enzimas sujeitas à regulação de síntese são frequentemente aquelas necessárias em um único estágio do desenvolvimento ou em condições fisiológicas especiais. Por exemplo, no estado alimentado, os elevados níveis de insulina induzem um aumento na síntese de enzimas-chave, como a *acetil-coenzima A (CoA)-carboxilase* (veja a p. 184) e a *3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA)-redutase* (veja a p. 223), envolvidas no metabolismo anabólico.

III. FÍGADO: CENTRO DE DISTRIBUIÇÃO DE NUTRIENTES

O fígado está situado em uma posição especial para processar e distribuir os nutrientes da dieta, pois a drenagem venosa intestinal e pancreática passa através do sistema venoso porta-hepático antes de entrar na circulação sistêmica. Portanto, depois de uma refeição, o fígado é banhado pelo sangue contendo os nutrientes absorvidos e elevados níveis de insulina, secretada pelo pâncreas. Durante o período absorptivo, o fígado capta carboidratos, lipídeos e a maioria dos aminoácidos. Esses nutrientes são então metabolizados, armazenados ou encaminhados para outros tecidos. Assim, o fígado atenua potenciais grandes flutuações na disponibilidade de nutrientes para os tecidos periféricos.

A. Metabolismo de carboidratos

O fígado normalmente é produtor de glicose, mais do que consumidor. No entanto, depois de uma refeição contendo carboidratos, o fígado se torna consumidor de glicose, retendo cerca de 60 de cada 100 g trazidos pelo sistema porta-hepático. Esse aumento da utilização de glicose não é resultado de um transporte estimulado de glicose para os hepatócitos, porque este processo é normalmente rápido, e o transportador de glicose GLUT-2 (veja a p. 97) não é influenciado pela insulina. O metabolismo hepático da glicose é aumentado pelos mecanismos descritos a seguir. (Nota: os números nos círculos coloridos no texto referem-se à Figura 24.3.)

- 1. Aumento da fosforilação da glicose.** Níveis elevados de glicose no hepatócito (resultante de níveis extracelulares aumentados) permitem à *glicocinase* fosforilar a glicose, produzindo glicose-6-fosfato. (Lembre-se que a *glicocinase* não sofre inibição pelo produto). Isso contrasta com o estado pós-absortivo (jejum), em que níveis hepáticos de glicose são mais baixos, e a *glicocinase* está predominantemente inativa devido a sua baixa afinidade (alto K_m) pela glicose (Figura 24.3, ①).
- 2. Aumento da síntese de glicogênio.** A conversão de glicose-6-fosfato em glicogênio é favorecida pela ativação da *glicogênio-sintase* – tanto por desfosforilação quanto por aumento na disponibilidade de glicose-6-fosfato, seu efector alostérico (veja a Figura 24.3, ②).
- 3. Aumento da atividade da via das pentoses-fosfato.** O aumento na disponibilidade de glicose-6-fosfato no estado alimentado, combinado com o uso aumentado de NADPH na lipogênese hepática, estimula a via das pentoses-fosfato (veja o Capítulo 12, p. 145). Essa rota metabólica é responsável por 5 a 10% da glicose metabolizada no fígado (veja a Figura 24.3, ③).
- 4. Aumento da glicólise.** No fígado, o metabolismo glicolítico é significativo apenas durante o período absorptivo subsequente a uma refeição rica em carboidratos. A conversão de glicose em acetil-CoA é estimulada pela razão insulina/glucagon elevada, que resulta em aumento na atividade (e na quantidade) das enzimas limitantes da velocidade da glicólise, como, por exemplo, a *piruvato-cinase* (veja a p. 102). A *piruvato-desidrogenase* (PDH), que converte piruvato em acetil-CoA, está ativa (desfosforilada) porque o piruvato inibe a *PDH-cinase* (veja a Figura 24.3, ④). A acetil-CoA é utilizada como bloco construtivo para a síntese de ácidos graxos, ou para fornecer energia por oxidação no ciclo do ácido cítrico.
- 5. Decréscimo da gliconeogênese.** A glicólise é estimulada no estado absorptivo, ao passo que a gliconeogênese é inibida. A *piruvato-car-*

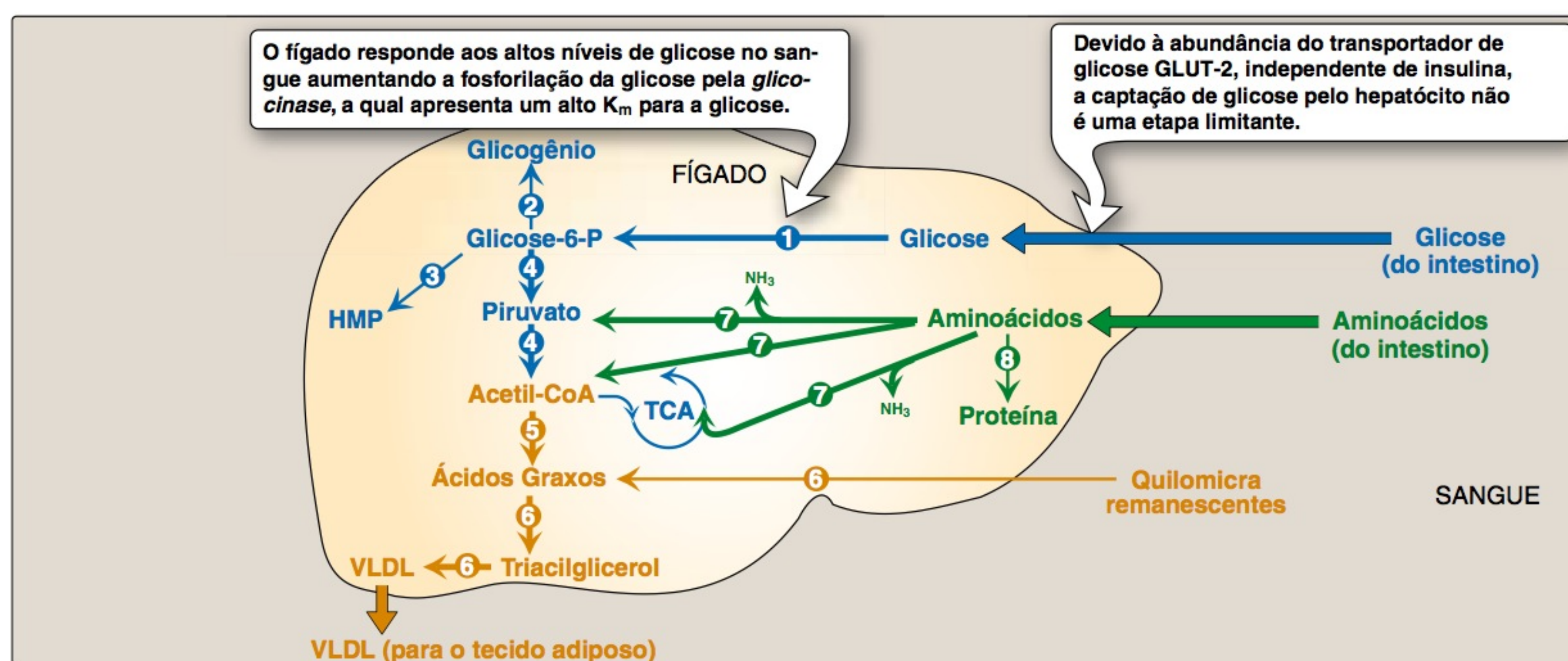


Figura 24.3

Principais vias metabólicas no fígado no estado absorptivo. (Nota: a Acetil-CoA é também utilizada para a síntese do colesterol.) Os números nos círculos, que aparecem na figura e no texto, indicam vias importantes para o metabolismo de carboidratos, lipídeos ou proteínas. **Texto em azul** = intermediários do metabolismo de carboidratos; **Texto em marrom** = intermediários do metabolismo de lipídeos; **Texto em verde** = intermediários do metabolismo proteico.

boxilase, que catalisa o primeiro passo da gliconeogênese, está predominantemente inativa devido aos baixos níveis de acetil-CoA, um efetor alostérico essencial para a atividade enzimática (veja a p. 119). (Nota: a acetil-CoA está sendo usada para a síntese de ácidos graxos.) A elevada razão insulina/glucagon observada no período absorptivo também favorece a inativação de outras enzimas exclusivas da gliconeogênese, como a *frutose-1,6-bisfosfatase* (veja a Figura 8.17, na p. 100). (Nota: a glicogenólise também diminui nesse período).

B. Metabolismo de lipídeos

1. **Aumento da síntese de ácidos graxos.** O fígado é o principal tecido para a síntese *de novo* de ácidos graxos (veja a Figura 24.3, 5). Essa rota ocorre no período absorptivo, quando o aporte energético da dieta excede os gastos energéticos do corpo. A síntese de ácidos graxos é favorecida pela disponibilidade de substratos (acetil-CoA e NADPH, derivados do metabolismo da glicose) e pela ativação da *acetil-CoA-carboxilase*, que ocorre tanto por desfosforilação quanto em resposta à presença de citrato, seu ativador alostérico. Essa enzima catalisa a formação de malonil-CoA a partir de acetil-CoA – reação que é o passo limitante na rota de síntese de ácidos graxos (veja a p. 183). (Nota: a oxidação de ácidos graxos é inibida neste período pelo malonil-CoA).
2. **Aumento da síntese de TAG.** A síntese de triacilglicerol é favorecida porque o acil-CoA graxo está disponível, tanto pela síntese *de novo* a partir de acetil-CoA quanto pela hidrólise dos triacilgliceróis componentes dos remanescentes de quilomicra removidos da circulação pelos hepatócitos (veja a p. 178). O glicerol-3-fosfato, o esqueleto de carbono para a síntese de triacilgliceróis, é fornecido pela rota glicolítica (veja a p. 189). O fígado empacota os triacilgliceróis, produzindo lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), secretadas no sangue e utilizadas por tecidos extra-hepáticos, especialmente os tecidos adiposo e muscular (veja a Figura 24.3, 6).

C. Metabolismo de aminoácidos

1. **Aumento na degradação de aminoácidos.** No estado absorptivo, a quantidade de aminoácidos que chega ao fígado supera a quantidade que pode ser usada para a síntese de proteínas ou de outras moléculas nitrogenadas derivadas de aminoácidos. Os aminoácidos excedentes não são armazenados, mas sim liberados na corrente circulatória para uso por todos os tecidos na síntese proteica, ou são desaminados, e os esqueletos de carbono resultantes são degradados no fígado produzindo piruvato, acetil-CoA ou intermediários do ciclo do ácido cítrico. Esses metabólitos podem ser oxidados para obtenção de energia ou utilizados para a síntese de ácidos graxos (veja a Figura 24.3, 7). O fígado tem capacidade limitada para degradar os aminoácidos ramificados leucina, isoleucina e valina; esses aminoácidos passam pelo fígado predominantemente inalterados e são metabolizados preferencialmente no tecido muscular (veja a p. 266).
2. **Aumento da síntese proteica.** O corpo não pode armazenar proteínas da mesma maneira que mantém os estoques de glicogênio ou de triacilgliceróis (veja a p. 327). Entretanto, um aumento transitório na síntese de proteínas hepáticas ocorre no estado absorptivo, resultando na reposição de proteínas que eventualmente tenham sido degradadas durante o período pós-absorptivo anterior (veja a Figura 24.3, 8).



Figura 24.4

Eletromicrografia colorizada de um adipócito.

IV. TECIDO ADIPOSEO: DEPÓSITO DOS ESTOQUES ENERGÉTICOS

O tecido adiposo só perde para o fígado na capacidade de distribuir moléculas combustíveis. Em um homem de 70 kg, o tecido adiposo pesa aproximadamente 14 kg ou o equivalente a cerca de metade da massa muscular total. Em indivíduos obesos, ele pode constituir até 70% do peso corporal. Um adipócito pode ter seu volume quase inteiramente ocupado por uma gotícula de triacilglicerol (Figura 24.4).

A. Metabolismo de carboidratos

- Aumento do transporte de glicose.** O transporte de glicose para dentro dos adipócitos pelo GLUT-4 é muito sensível à concentração de insulina no sangue. Os níveis circulantes de insulina elevam-se no estado absorptivo, resultando em influxo de glicose para os adipócitos (Figura 24.5, ①).
- Aumento da glicólise.** O aumento da disponibilidade intracelular de glicose resulta em aumento na atividade glicolítica (veja Figura 24.5, ②). No tecido adiposo, a glicólise serve à função sintética, fornecendo glicerol-fosfato para a síntese de triacilgliceróis (veja a p. 189).
- Aumento da atividade da via das pentoses-fosfato.** O tecido adiposo pode também metabolizar a glicose utilizando a via das pentoses-fosfato, desse modo produzindo NADPH, que é essencial para a síntese de lipídeos (veja a p. 186 e a Figura 24.5, ③). Nos humanos, no entanto, a síntese *de novo* não é uma fonte importante de ácidos graxos para o tecido adiposo.

B. Metabolismo de lipídeos

- Aumento da síntese de ácidos graxos.** A síntese *de novo* de ácidos graxos a partir de acetil-CoA no tecido adiposo é baixa em humanos, exceto quando o indivíduo é realimentado após o período de jejum (veja a Figura 24.5, ④). A maioria dos ácidos graxos adicionados aos estoques de lipídeos nos adipócitos é fornecida pela gordura da dieta (na forma de quilomicra) ou, em menor quantidade, pelo fígado, na forma de VLDL (veja as p. 228 e 231).
- Aumento da síntese de TAG.** Depois de uma refeição contendo lipídeos, a hidrólise dos triacilgliceróis dos quilomicra (oriundos do intestino) e das VLDL (originárias do fígado) fornece os ácidos graxos ao tecido adiposo (veja a Figura 24.5, ⑤). Esses ácidos graxos são liberados das lipoproteínas pela ação da *lipase lipoproteica*, uma enzima extracelular ancorada à parede dos capilares de muitos tecidos, particularmente os tecidos adiposo e muscular. Uma vez que os adipócitos não apresentam *glicerol-cinase*, o glicerol-3-fosfato usado na síntese de triacilgliceróis vem do metabolismo da glicose (veja a p. 189). Portanto, no estado alimentado, níveis elevados de glicose e de insulina favorecem o armazenamento de triacilgliceróis (veja a Figura 24.5, ⑥), com todos os carbonos sendo fornecidos pela glicose.
- Decréscimo da degradação de TAG.** Níveis elevados de insulina favorecem a forma desfosforilada (inativa) da *lipase sensível a hormônio* (veja a p. 190). Portanto, no estado alimentado, a degradação de triacilgliceróis está inibida.

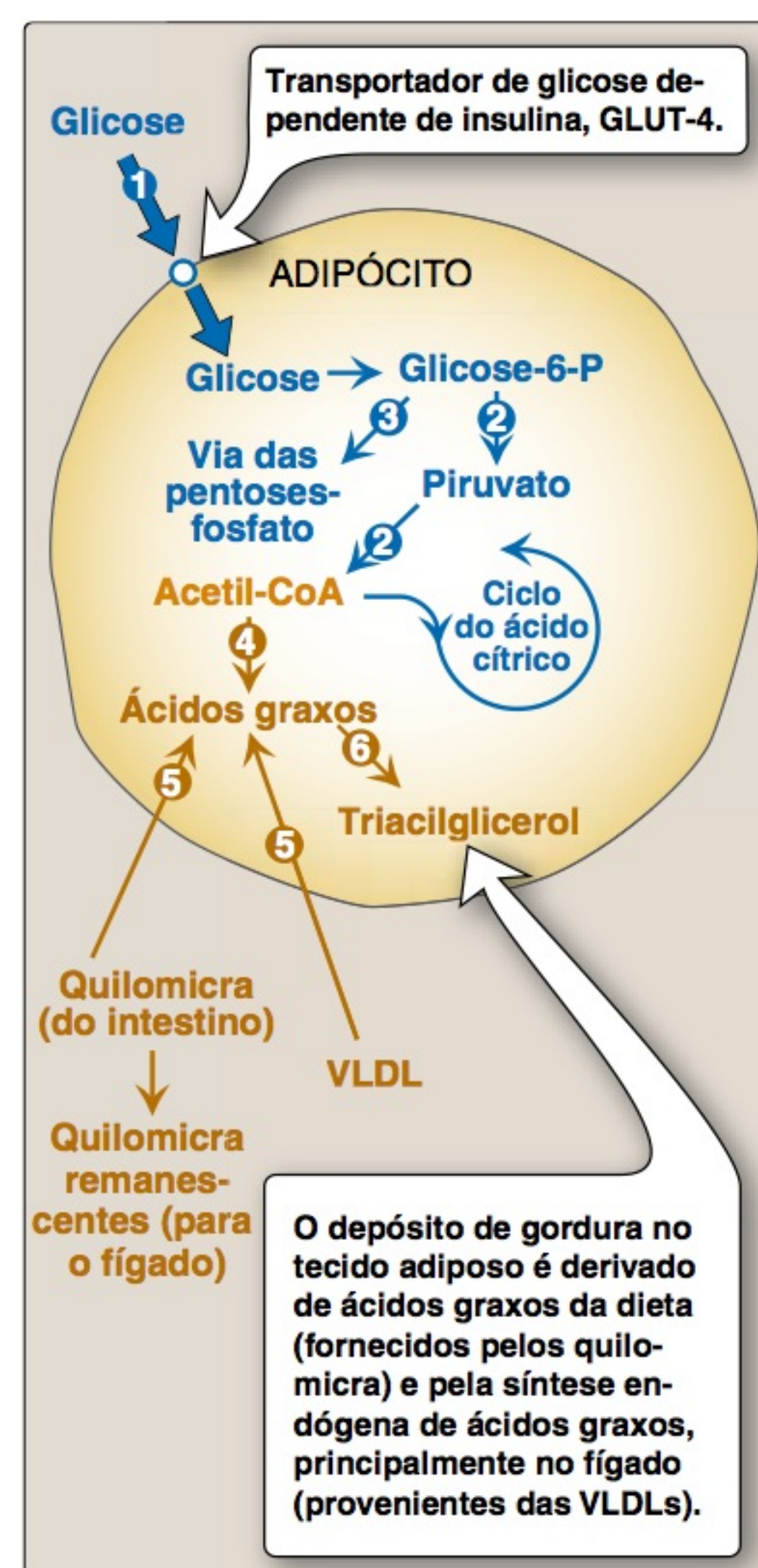


Figura 24.5

Principais rotas metabólicas no tecido adiposo no estado absorptivo. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e nos trechos correspondentes do texto, indicam as principais rotas do metabolismo no tecido adiposo.)

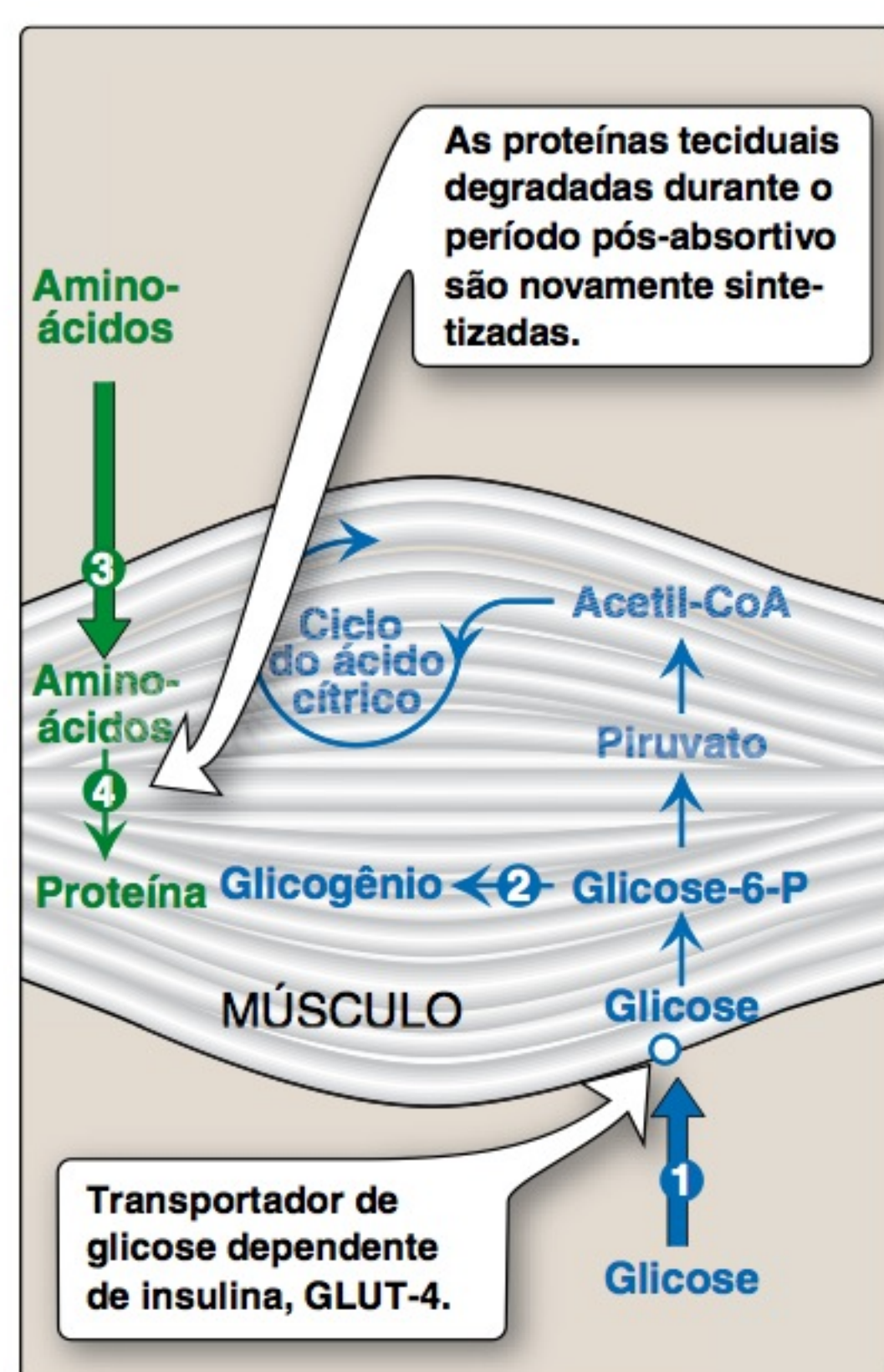


Figura 24.6

Principais rotas metabólicas no tecido muscular esquelético no estado absorptivo. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e nos trechos correspondentes do texto, indicam importantes rotas do metabolismo de carboidratos e proteínas no tecido muscular.)

V. O TECIDO MUSCULAR ESQUELÉTICO EM REPOUSO

O metabolismo energético no músculo esquelético é singular por sua capacidade de responder a mudanças substanciais na demanda de ATP que acompanham a contração muscular. Em repouso, o tecido muscular é responsável por aproximadamente 30% do oxigênio consumido pelo corpo, ao passo que no exercício vigoroso o consumo alcança até 90%. Isso ilustra claramente o fato de que o tecido muscular esquelético, apesar do potencial para períodos transitórios de glicólise anaeróbia, é um tecido oxidativo. (Nota: o tecido muscular cardíaco difere do esquelético em três importantes aspectos: 1) o coração é continuamente ativo, e os músculos esqueléticos se contraem intermitentemente, dependendo da demanda; 2) o coração apresenta um metabolismo completamente aeróbio; 3) o coração contém depósitos energéticos insignificantes, como glicogênio ou lipídeos. Portanto, qualquer interrupção do fornecimento sanguíneo, como ocorre, por exemplo, no infarto do miocárdio, resulta em rápida morte das células musculares cardíacas.) O músculo cardíaco utiliza glicose, ácidos graxos e corpos cetônicos como combustíveis.

A. Metabolismo de carboidratos

1. **Aumento do transporte de glicose.** O aumento transitório de glicose e de insulina no plasma depois de uma refeição rica em carboidratos leva ao aumento do transporte de glicose para dentro das células musculares pelo GLUT-4 (veja a p. 97 e a Figura 24.6, ①). A glicose é fosforilada pela *hexocinase*, produzindo glicose-6-fosfato, e metabolizada para fornecer a energia necessária às células. (Nota: no estado de jejum, os corpos cetônicos e os ácidos graxos são os principais combustíveis para o músculo em repouso.)
2. **Aumento da síntese de glicogênio.** O aumento da razão insulina/glucagon e a disponibilidade de glicose-6-fosfato favorecem a síntese do glicogênio, especialmente se as reservas de glicogênio tiverem sido esgotadas como resultado do exercício (veja a p. 126 e a Figura 24.6, ②).

B. Metabolismo de lipídeos

Os ácidos graxos são liberados dos quilomicra e das VLDL pela ação da *lipase lipoproteica* (veja as p. 228 e 231). Os ácidos graxos, no entanto, são combustíveis secundários para o músculo no estado alimentado, situação em que a glicose é a principal fonte de energia.

C. Metabolismo de aminoácidos

1. **Aumento na síntese proteica.** Um incremento na captação de aminoácidos e na síntese proteica ocorre no período absorptivo, após uma refeição contendo proteínas (veja a Figura 24.6, ③ e ④). Essa síntese repõe as proteínas degradadas desde a refeição anterior.
2. **Aumento na captação de aminoácidos ramificados.** O tecido muscular é o principal local para degradação de aminoácidos ramificados, pois contém a *transaminase* necessária para tal (veja a p. 266). Os aminoácidos ramificados leucina, isoleucina e valina escapam da metabolização hepática e são captados pelo músculo, onde são usados para a síntese proteica (veja a Figura 24.6, ③) e como substratos energéticos.

VI. O ENCÉFALO

O encéfalo, embora contribua com apenas 2% do peso corporal adulto, é responsável por 20% do consumo basal de oxigênio do corpo em repouso. Uma vez que o encéfalo é vital para o funcionamento apropriado de todos os órgãos do corpo, atenção especial é dada às suas necessidades energéticas. Para fornecer energia ao encéfalo, os substratos devem ser capazes de atravessar as células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos no encéfalo (a barreira hematoencefálica). Normalmente, a glicose serve como principal combustível. (Nota: se a concentração de glicose no sangue cai abaixo de 40 mg/100 mL [o valor normal no jejum varia entre 70 e 99 mg/100 mL], a função cerebral é prejudicada. Se uma hipoglicemia ocorrer, mesmo por curto período, um dano cerebral grave e irreversível pode acontecer.) Durante o jejum, no entanto, os corpos cetônicos exercem papel importante como combustível para o encéfalo, reduzindo sua dependência da glicose (veja a p. 196).

A. Metabolismo de carboidratos

No estado alimentado, o encéfalo utiliza exclusivamente glicose como combustível, oxidando completamente cerca de 140 g de glicose/dia em dióxido de carbono e água. O encéfalo contém quantidades insignificantes de glicogênio e, portanto, depende completamente da disponibilidade de glicose no sangue (Figura 24.7, ❶).

B. Metabolismo de lipídeos

O encéfalo não apresenta armazenamento significativo de triacilgliceróis, e os ácidos graxos presentes no sangue contribuem muito pouco para a produção de energia, pois, estando ligados à albumina, não atravessam com eficiência a barreira hematoencefálica. As trocas metabólicas entre os tecidos características do estado absorptivo estão resumidas na Figura 24.8.

VII. VISÃO GERAL DO JEJUM

O jejum inicia quando não há alimento ingerido após o período absorptivo. Pode resultar de uma incapacidade de obter alimento, de um desejo de perder peso rapidamente ou de situações clínicas em que o indivíduo não pode comer, por exemplo, devido a trauma, cirurgia, tumores ou queimaduras. Na ausência de alimento, os níveis plasmáticos de glicose, aminoácidos e triacilgliceróis caem, provocando redução na secreção de insulina e aumento na liberação de glucagon. A diminuição na razão insulina/glucagon e o decréscimo de substratos circulantes fazem do período de privação de nutrientes um período catabólico, caracterizado por degradação dos estoques de glicogênio, triacilgliceróis e proteínas. Isso coloca em movimento uma intensa troca de substratos entre o fígado, o tecido adiposo, os músculos e o encéfalo, orientada por duas prioridades: 1) a necessidade de manter adequados os níveis plasmáticos de glicose para suprir as necessidades energéticas do encéfalo, dos eritrócitos e de outros tecidos dependentes de glicose, e 2) a necessidade de mobilizar ácidos graxos do tecido adiposo, bem como de sintetizar e liberar corpos cetônicos do fígado, para suprir energeticamente todos os outros tecidos.

A. Estoques energéticos

Os combustíveis metabólicos disponíveis em um homem normal de 70 kg, no início do jejum, são mostrados na Figura 24.9. Observe a grande quantidade de estoques energéticos disponíveis na forma de triacilgliceróis, comparada com a quantidade de glicogênio existente. (Nota: embora

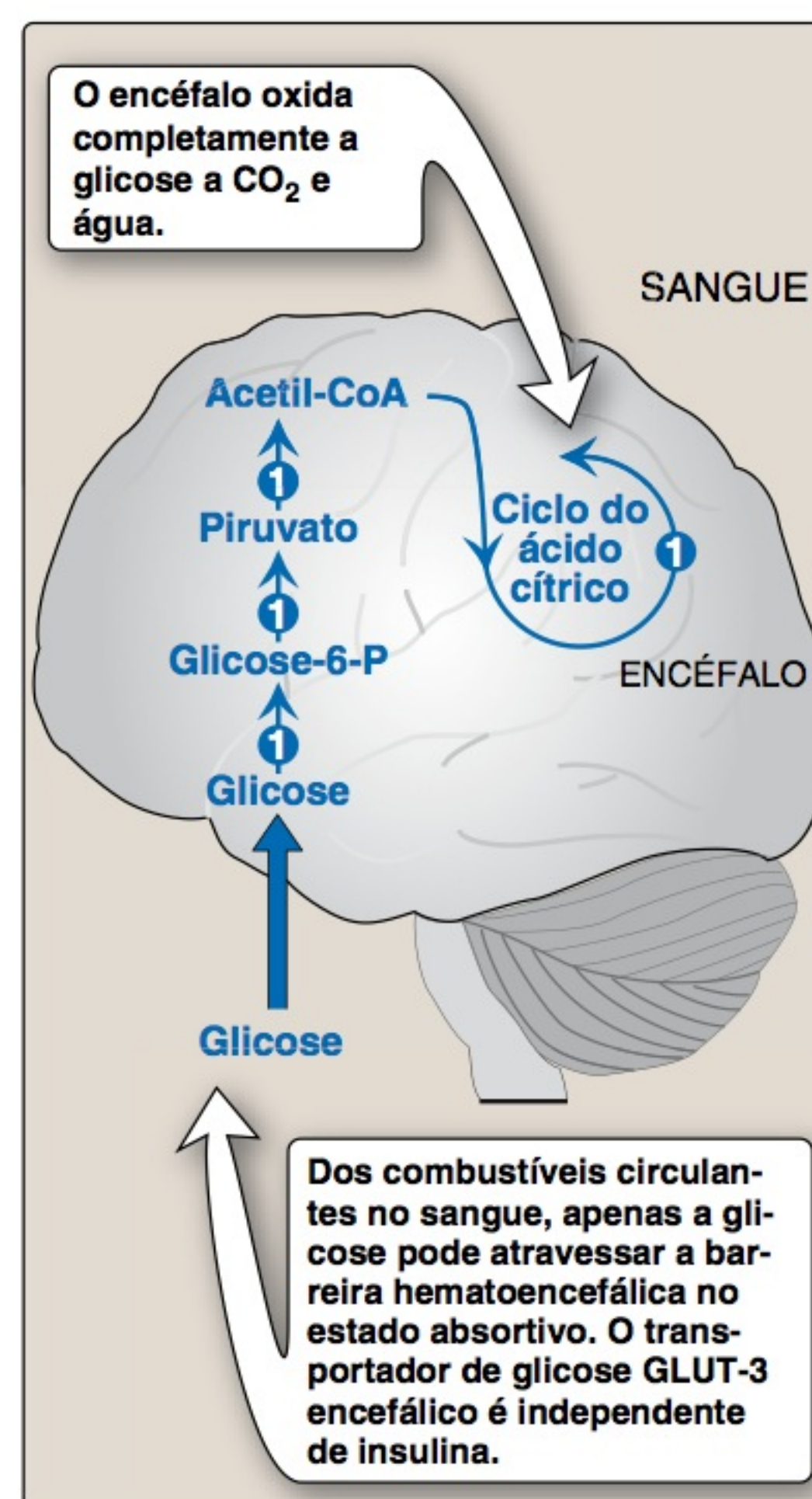
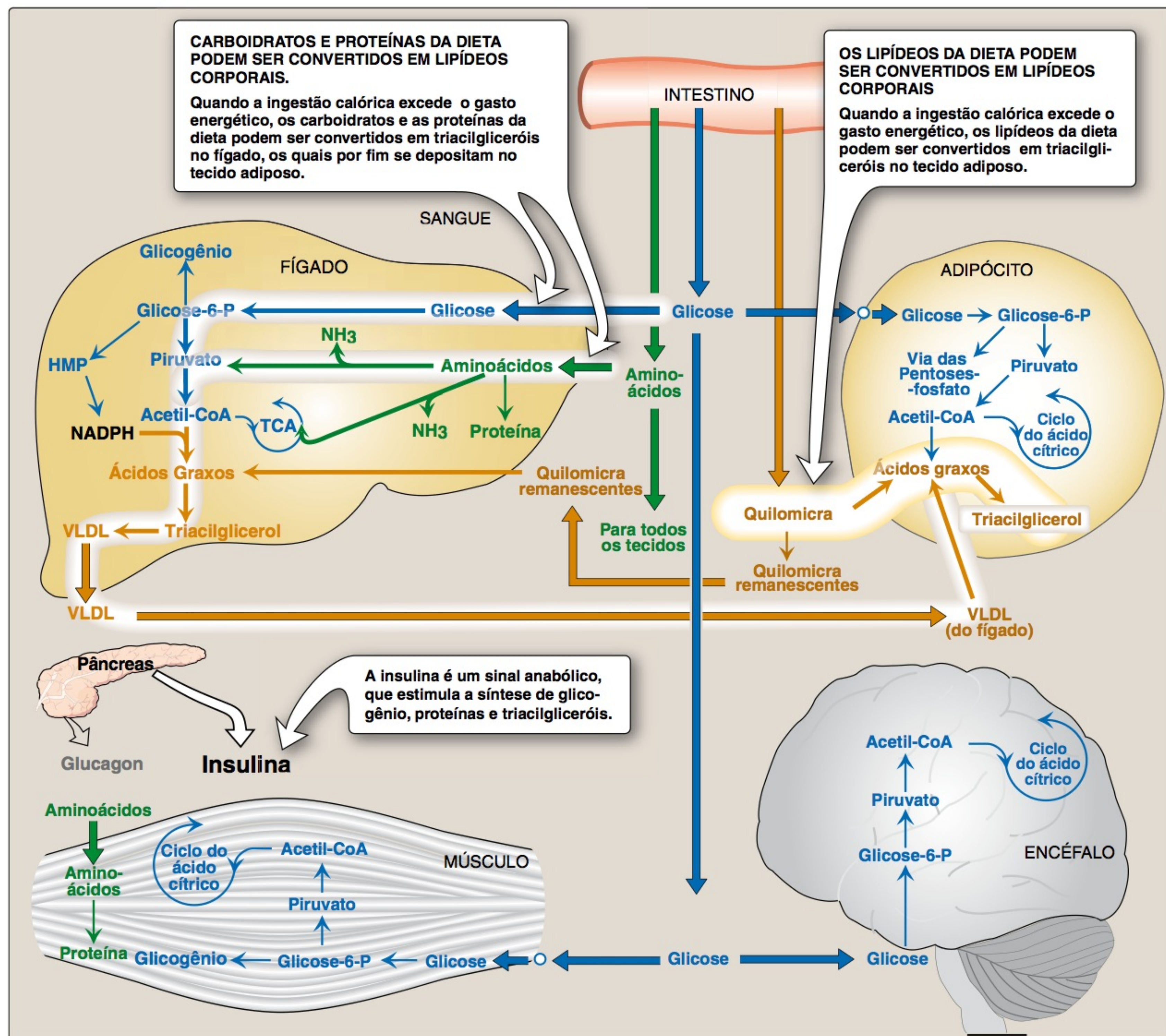


Figura 24.7

Principais rotas metabólicas no encéfalo no estado absorptivo. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e nos trechos correspondentes do texto, indicam importantes rotas do metabolismo dos carboidratos.)

**Figura 24.8**

Relações metabólicas entre os tecidos no estado absorptivo. (Nota: os pequenos círculos no perímetro dos tecidos indicam a dependência de insulina dos transportadores de glicose.)

a proteína seja listada como fonte energética, cada proteína também tem sua função, por exemplo, componente estrutural, enzima e assim por diante. Portanto, apenas um terço da proteína corporal pode ser usada para produção energética, sem comprometer fatalmente as funções vitais.)

B. Mudanças enzimáticas no jejum

No jejum (assim como no estado alimentado), o fluxo de intermediários através das rotas do metabolismo energético é controlado por quatro mecanismos: 1) disponibilidade de substratos; 2) ativação e inibição alostérica de enzimas; 3) modificação covalente de enzimas; e 4) indução e repressão da síntese de enzimas. As mudanças metabólicas observadas no jejum são geralmente opostas às aquelas descritas no estado alimentado

(veja a Figura 24.8). Por exemplo, no estado alimentado, em sua maioria, as enzimas reguladas por modificação covalente estão desfosforiladas e ativas, ao passo que no estado de jejum estão fosforiladas e inativas. Três exceções são a *glicogênio-fosforilase* (veja a p. 132), a *glicogênio-fosforilase-cinase* (veja a p. 132) e a *lipase sensível a hormônio* do tecido adiposo (veja a p. 190), que são inativas em suas formas desfosforiladas. No jejum, os substratos não vêm da dieta, e sim, da degradação nos tecidos; por exemplo, da lipólise com liberação de ácidos graxos e glicerol a partir dos TAG no tecido adiposo, e da proteólise com liberação de aminoácidos pelo músculo. O reconhecimento de que as trocas no jejum são recíprocas àquelas descritas no estado alimentado é útil para entender o fluxo e o refluxo do metabolismo.

VIII. O FÍGADO NO ESTADO DE JEJUM

O papel principal do fígado no metabolismo energético durante o jejum é a manutenção da glicose sanguínea pela síntese e distribuição de moléculas combustíveis para outros tecidos. Por isso se fala em “metabolismo hepático” e “extra-hepático” ou “periférico”.

A. Metabolismo de carboidratos

No jejum (estado pós-absortivo), o fígado usa inicialmente a degradação do glicogênio e então a gliconeogênese para manter os níveis de glicose no sangue e sustentar o metabolismo energético do encéfalo e de outros tecidos dependentes de glicose. (Nota: lembre-se que a presença da *glicose-6-fosfatase* no fígado permite a liberação da glicose livre, tanto da glicogenólise, quanto da gliconeogênese [veja a p. 130].)

1. **Aumento da degradação de glicogênio.** A Figura 24.10 mostra as fontes de glicose no sangue depois da ingestão de 100 g desse substrato. Durante o breve período absorptivo, a glicose ingerida é a maior fonte de glicose para o sangue. Várias horas depois da ingestão, a glicemia cai o suficiente para causar aumento da secreção de glucagon e decréscimo da liberação de insulina. O decréscimo da razão insulina/glucagon causa a rápida mobilização dos estoques de glicogênio hepático (que contém cerca de 80 g de glicogênio no estado alimentado) devido à fosforilação (ativação) da *glicogênio-fosforilase* (veja p. 130). Observe que o fígado é quase exaurido em seu conteúdo de glicogênio depois de 10 a 18 horas de jejum. Portanto, a glicogenólise hepática é uma resposta transitória ao início do jejum. A Figura 24.11 ① mostra a degradação do glicogênio como parte da resposta metabólica geral do fígado durante o jejum.
2. **Aumento da gliconeogênese.** A síntese de glicose e sua subsequente liberação para a circulação são funções hepáticas essenciais durante o jejum (veja a Figura 24.11, ②). Os esqueletos de carbono para a gliconeogênese são derivados principalmente de aminoácidos glicogênicos e lactato, originário do músculo, e de glicerol, oriundo do tecido adiposo. A gliconeogênese, favorecida pela ativação de *frutose-1,6-bisfosfatase* (devido à queda do seu inibidor, a frutose-2,6-bisfosfato, veja a p. 121) e pela indução da *fosfoenolpiruvato (PEP)-carboxicinase* por meio do glucagon (veja a p. 122), inicia entre quatro e seis horas depois da última refeição, e se torna plenamente ativa quando os estoques hepáticos de glicogênio são esgotados (veja a Figura 24.10). A gliconeogênese exerce papel fundamental na manutenção da glicemia durante o jejum noturno ou o jejum mais prolonga-

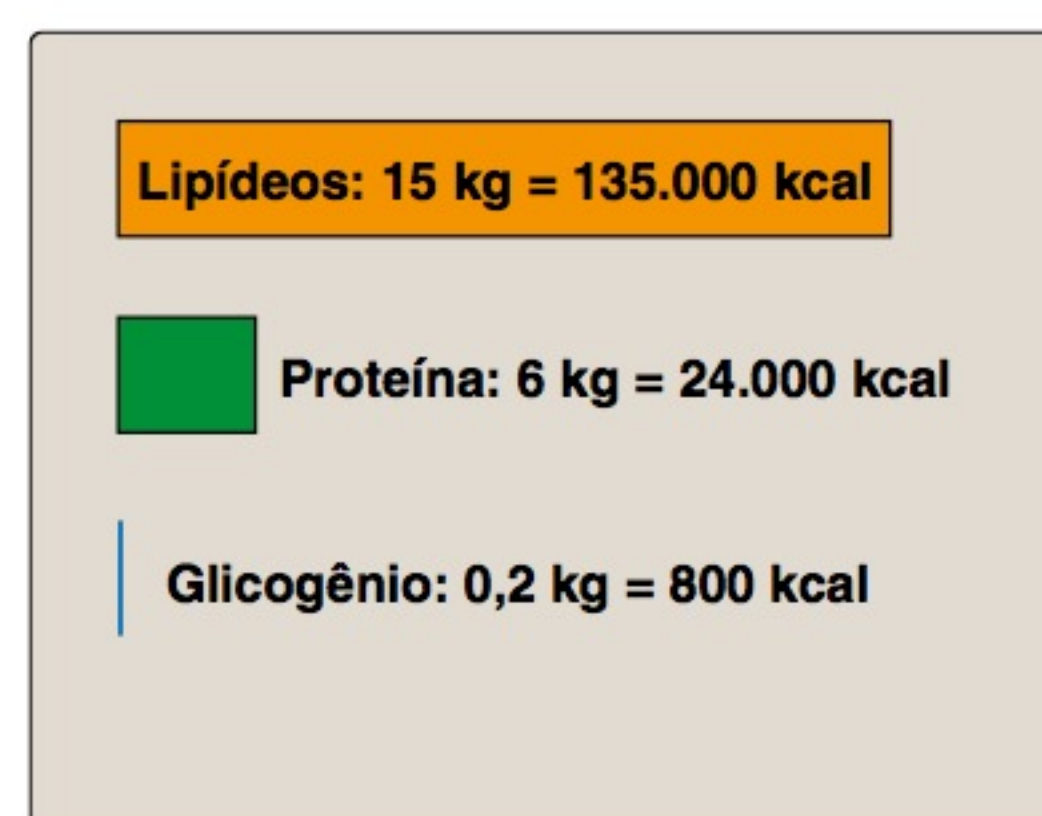


Figura 24.9

Combustíveis metabólicos em um homem de 70 kg no início do jejum. Os lipídeos armazenados são suficientes para atender as necessidades de energia por cerca de três meses.

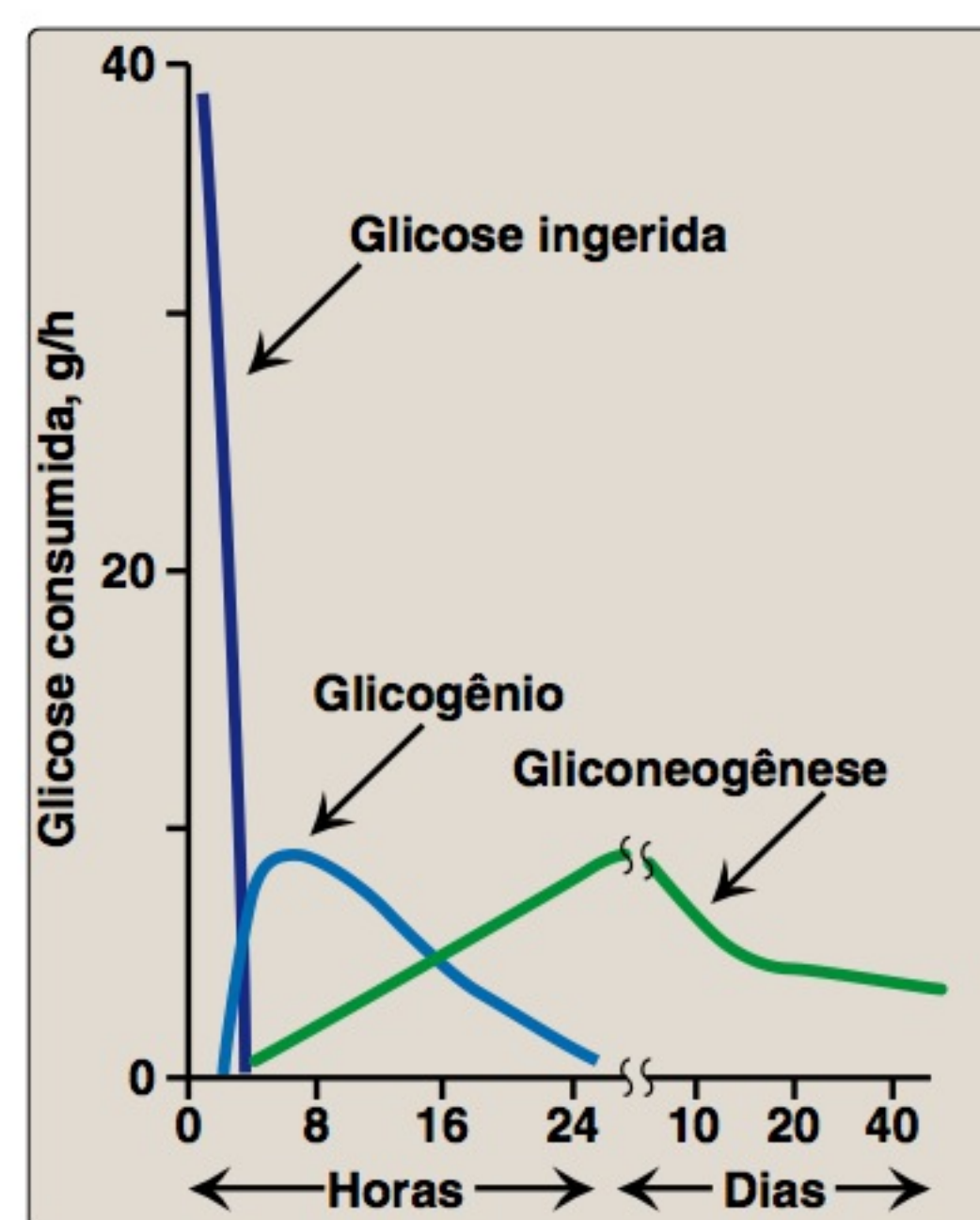


Figura 24.10

Fontes da glicose sanguínea depois de uma ingestão de 100 g de glicose.

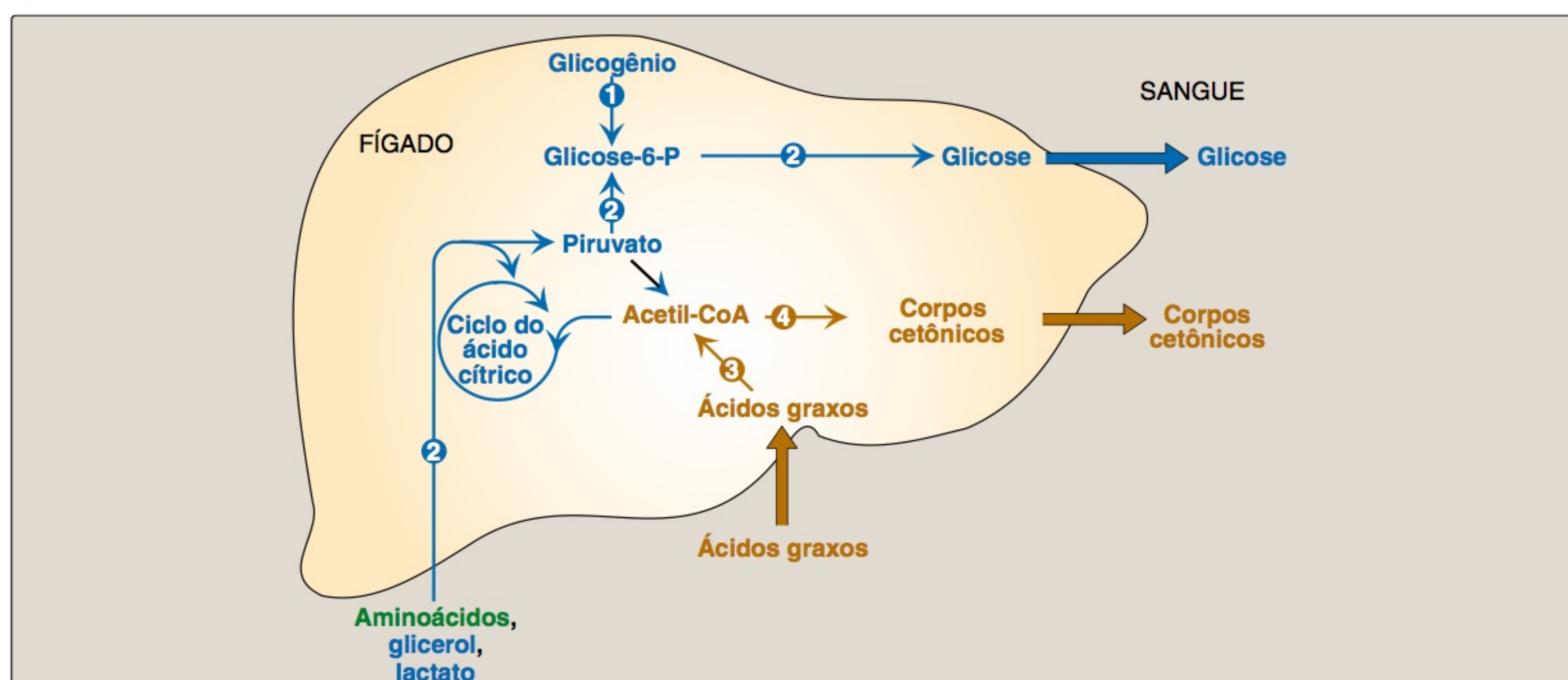


Figura 24.11

Principais rotas metabólicas no fígado durante o jejum. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e nos textos correspondentes, indicam rotas importantes para o metabolismo de carboidratos ou lipídeos.)

do. (Nota: embora a acetil-CoA não possa ser usada como substrato para a gliconeogênese, a acetil-CoA produzida pela oxidação de ácidos graxos no fígado pode servir como ativador alostérico da *piruvato-carboxilase* (e inibidor alostérico da *piruvato-desidrogenase*), e assim encaminhar o piruvato para a gliconeogênese (veja a Figura 8.24).

B. Metabolismo de lipídeos

1. **Aumento da oxidação de ácidos graxos.** A oxidação de ácidos graxos derivados da hidrólise de TAG no tecido adiposo é a maior fonte energética para o fígado no estado pós-absortivo (veja a Figura 24.11, ③). A queda no conteúdo de malonil-CoA, devido à fosforilação (inativação) da *acetil-CoA-carboxilase* pela *proteína-cinase ativada por AMP* (AMPK), rompe a inibição da *carnitina-palmitoil-transferase-1* (CPT-1), permitindo que a β -oxidação ocorra (veja a p. 191). (Nota: a oxidação de ácidos graxos fornece o NADH e o trifosfato de adenosina [ATP] exigidos pela gliconeogênese hepática.)

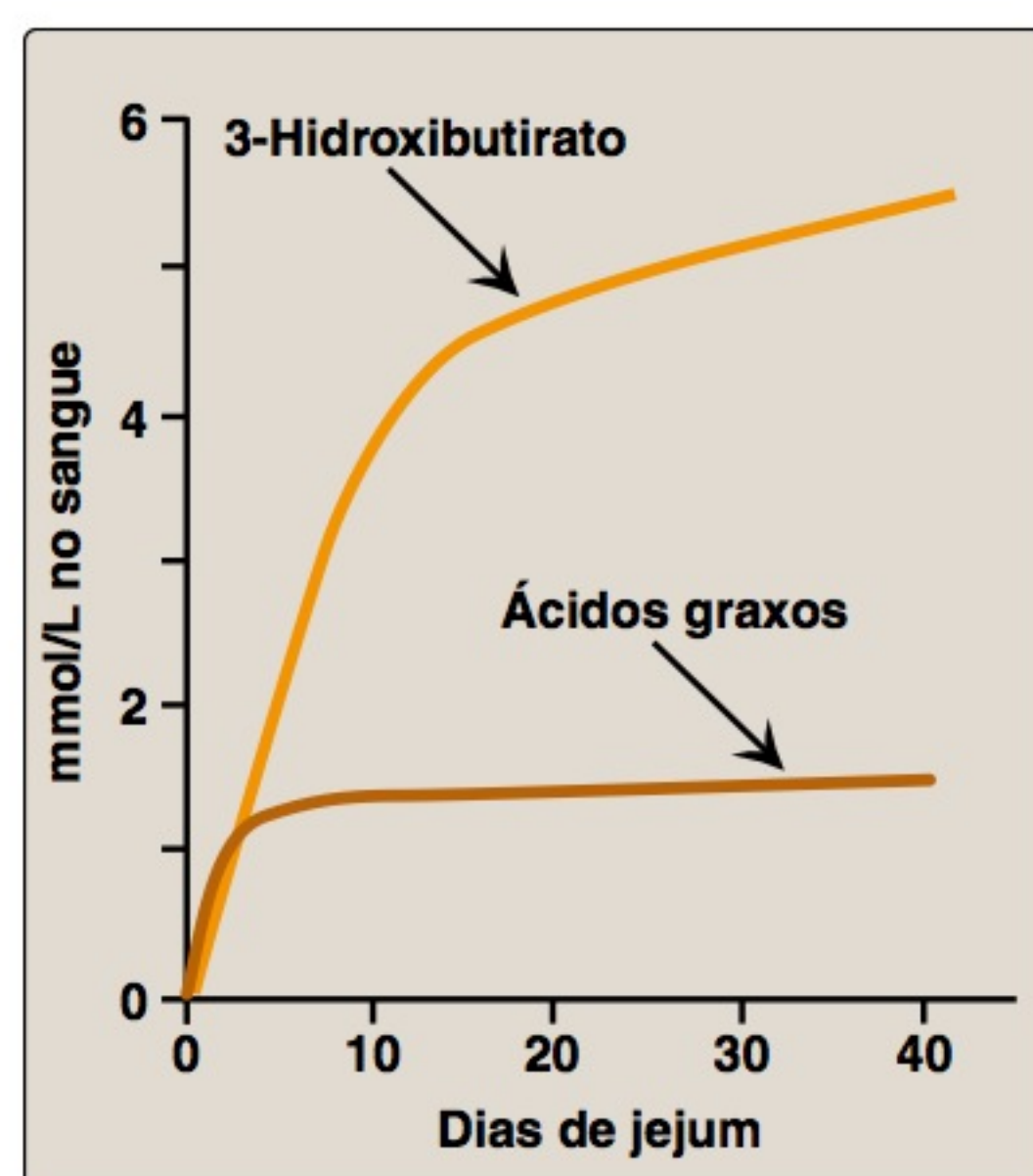


Figura 24.12

Concentração de ácidos graxos e 3-hidroxibutirato no sangue durante o jejum.

2. **Aumento da síntese de corpos cetônicos.** O fígado é único por sua capacidade de sintetizar e liberar corpos cetônicos (predominantemente 3-hidroxibutirato, também chamado β -hidroxibutirato) para utilização como combustíveis nos tecidos periféricos (veja a p. 195), mas o próprio fígado não pode usar corpos cetônicos como combustível. A cetogênese é favorecida quando a quantidade de acetil-CoA produzida pelo metabolismo dos ácidos graxos excede a capacidade oxidativa do ciclo do ácido cítrico. (Nota: a cetogênese libera CoA, assegurando sua disponibilidade para a contínua oxidação de ácidos graxos.) Uma produção significativa de corpos cetônicos inicia durante os primeiros dias do jejum (Figura 24.12). A disponibilidade de corpos cetônicos (hidrossolúveis) circulantes é importante no jejum, porque eles podem ser utilizados como combustível por muitos tecidos, incluindo o cérebro, desde que sua concentração no sangue seja suficientemente alta. Isso reduz a necessidade de gliconeogênese a partir do esqueleto carbonado de aminoácidos, tornando, assim, mais lenta a perda de proteínas essenciais. A cetogênese, como parte da resposta geral

do fígado ao jejum, é mostrada na Figura 24.11, 4. (Nota: os corpos cetônicos são ácidos orgânicos e, quando presentes em altas concentrações, podem causar cetoacidose).

IX. O TECIDO ADIPOSEO NO JEJUM

A. Metabolismo de carboidratos

O transporte de glicose para os adipócitos (veja a p. 97), através do transportador sensível à insulina GLUT-4, e seu subsequente metabolismo estão reduzidos, em decorrência dos baixos níveis circulantes de insulina. Isso leva a um decréscimo na síntese de ácidos graxos e de TAG.

B. Metabolismo de lipídeos

- 1. Aumento na degradação de TAG.** A ativação da *lipase sensível a hormônio* (veja a p. 190) e a subsequente hidrólise dos estoques de triacilglicerol são aumentadas pelos elevados níveis das catecolaminas adrenalina e, particularmente, noradrenalina. Esses compostos, liberados pelos terminais nervosos simpáticos no tecido adiposo, são fisiologicamente importantes na ativação da *lipase sensível a hormônio* (Figura 24.13, 1). (Nota: o glucagon também ativa a *lipase* [veja a p. 190].)
- 2. Aumento na liberação de ácidos graxos.** A maior parte dos ácidos graxos obtidos da hidrólise de triacilgliceróis estocados é liberada no sangue (veja a Figura 24.13, 2). Ligados à albumina, são transportados a uma variedade de tecidos para utilização como combustível. O glicerol produzido durante a degradação dos triacilgliceróis é usado como precursor da gliconeogênese no fígado. (Nota: os ácidos graxos são também oxidados a acetil-CoA, que pode entrar no ciclo do ácido cítrico e, portanto, produzir energia para o adipócito. Eles também podem ser reesterificados junto ao glicerol-3-fosfato proveniente da gliceroneogênese (veja p. 190) gerando TAG.)
- 3. Decréscimo na captação de ácidos graxos.** No jejum, a atividade da *lipase lipoproteica* no tecido adiposo é baixa. Consequentemente, triacilgliceróis de lipoproteínas circulantes não estão disponíveis para o tecido adiposo.

X. O TECIDO MUSCULAR ESQUELÉTICO EM REPOUSO NO JEJUM

O músculo esquelético em repouso usa ácidos graxos como principal fonte energética. Em contraste, no exercício, o músculo usa inicialmente, como fonte de energia, o glicogênio estocado. Durante o exercício intenso, a glicose-6-fosfato derivada do glicogênio é convertida em lactato pela glicólise anaeróbia (veja a p. 103). À medida que essa reserva de glicogênio se esgota, os ácidos graxos livres, fornecidos pela mobilização de triacilgliceróis a partir do tecido adiposo, tornam-se a principal fonte de energia.

A. Metabolismo de carboidratos

O transporte de glicose para dentro das células do músculo esquelético via proteínas transportadoras dependentes de insulina (GLUT-4) na membrana plasmática (veja a p. 97) e o seu subsequente metabolismo estão reduzidos, devido à baixa concentração de insulina circulante.

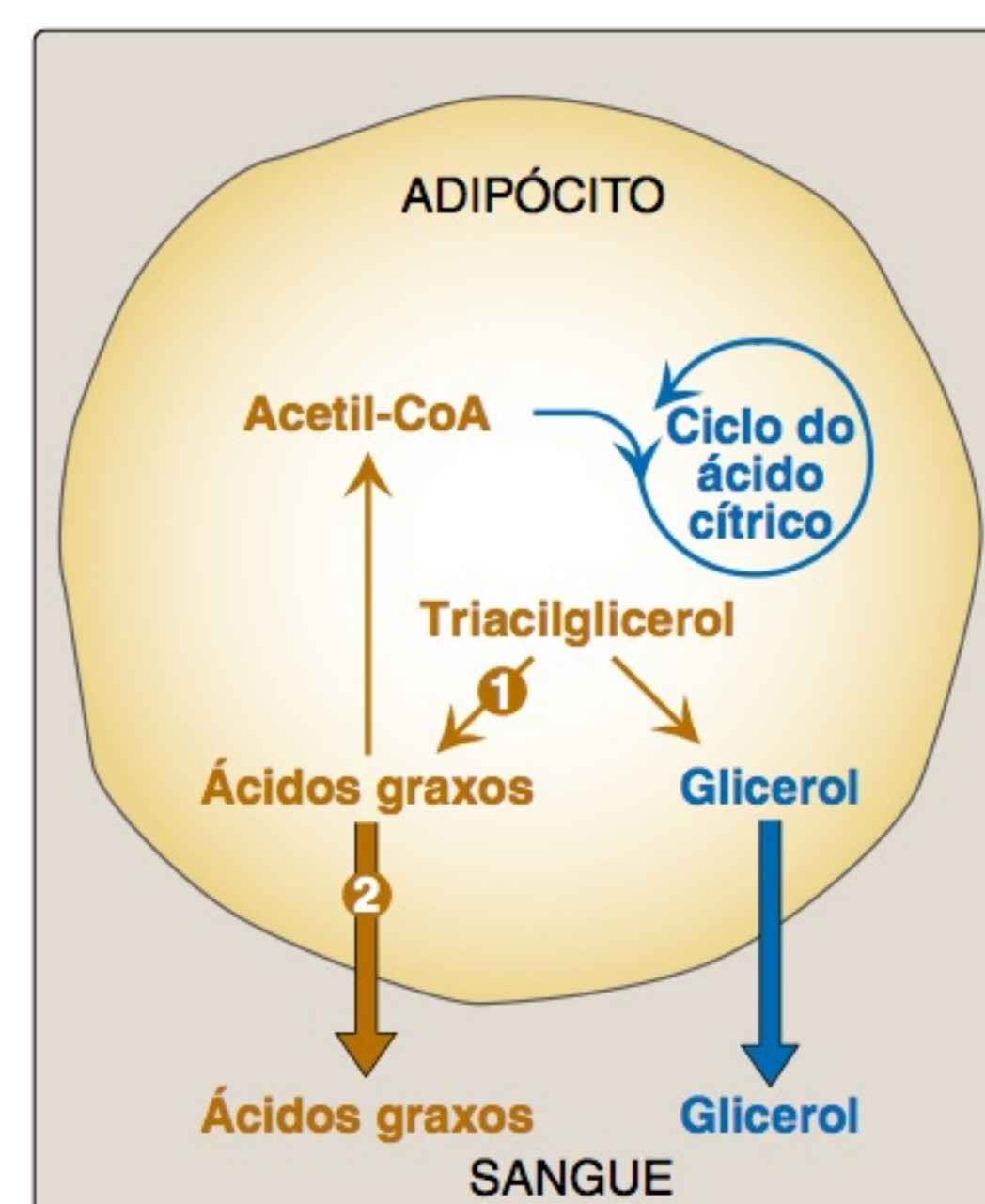


Figura 24.13

As principais rotas metabólicas no tecido adiposo durante o jejum. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e no texto correspondente, indicam rotas importantes para o metabolismo de lipídeos.)

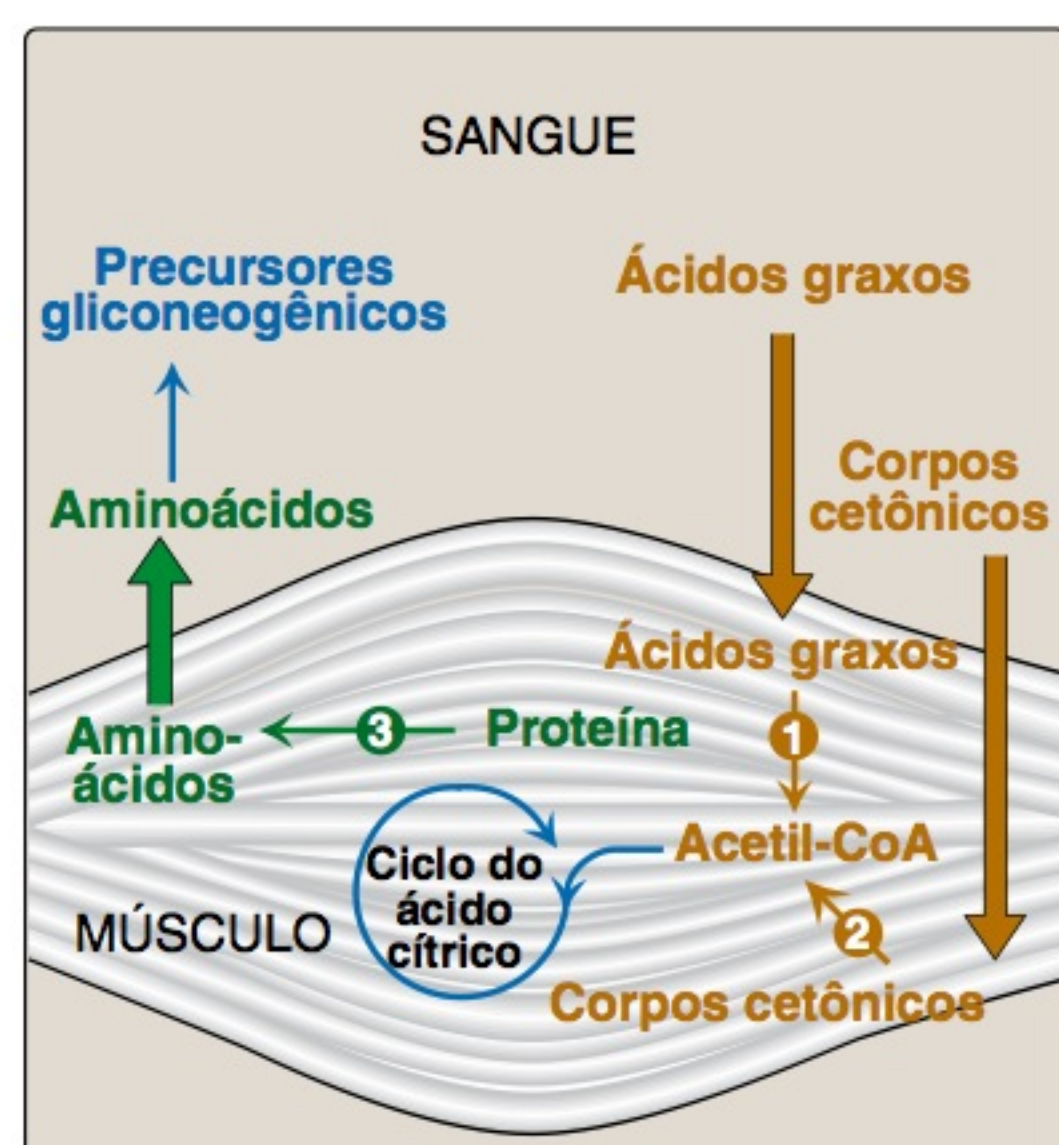


Figura 24.14

Principais rotas metabólicas no tecido muscular esquelético durante o jejum. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e nos textos correspondentes, indicam rotas importantes para o metabolismo de lipídeos ou proteínas.)

B. Metabolismo de lipídeos

Durante as duas primeiras semanas de jejum, os músculos usam ácidos graxos do tecido adiposo e corpos cetônicos do fígado como combustíveis (Figura 24.14, ① e ②). Com cerca de três semanas de jejum, os músculos reduzem o consumo de corpos cetônicos e oxidam quase exclusivamente ácidos graxos. Isso leva a um aumento adicional do já elevado nível de corpos cetônicos circulantes. (Nota: o aumento da utilização de corpos cetônicos pelo encéfalo, como consequência do aumento desses compostos no sangue, está relacionado, portanto, ao decréscimo do consumo pelos músculos.)

C. Metabolismo de proteínas

Durante os primeiros dias de jejum, há uma rápida quebra de proteína muscular, fornecendo aminoácidos que são usados pelo fígado para a gliconeogênese (veja a Figura 24.14, ③). A proteólise muscular provavelmente é desencadeada pela redução de insulina e mantida pelo aumento de glicocorticoides, pois o músculo não possui receptores para glucagon. (Nota: a alanina e a glutamina são quantitativamente os mais importantes aminoácidos gliconeogênicos liberados pelo músculo. Eles são produzidos pelo catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada [veja a p. 267].) Depois de várias semanas de jejum, a velocidade da proteólise muscular decresce, porque há um declínio na necessidade de glicose pelo encéfalo, que começa a utilizar corpos cetônicos como fonte de energia.

XI. O ENCÉFALO NO JEJUM

Durante os primeiros dias de jejum, o SNC continua a usar exclusivamente glicose como fonte energética (Figura 24.15, ①). (Nota: a glicemia é mantida pela gliconeogênese hepática, a partir de precursores como os aminoácidos, fornecidos pela proteólise muscular, e glicerol, fornecido pela lipólise.) No jejum prolongado (mais de duas ou três semanas), os corpos cetônicos (veja a Figura 24.12) atingem no plasma níveis significativamente elevados e, juntamente com a glicose, se tornam o combustível no encéfalo (veja a Figura 24.15, ② e 24.16). Isso reduz a necessidade de catabolismo proteico para a gliconeogênese. Os corpos cetônicos poupam glicose e, assim, proteína muscular. As mudanças metabólicas ocorridas no jejum asseguram que todos os tecidos tenham suprimento adequado de moléculas combustíveis. A resposta dos principais tecidos envolvidos no metabolismo energético durante o jejum está resumida na Figura 24.17 (veja a seguir).

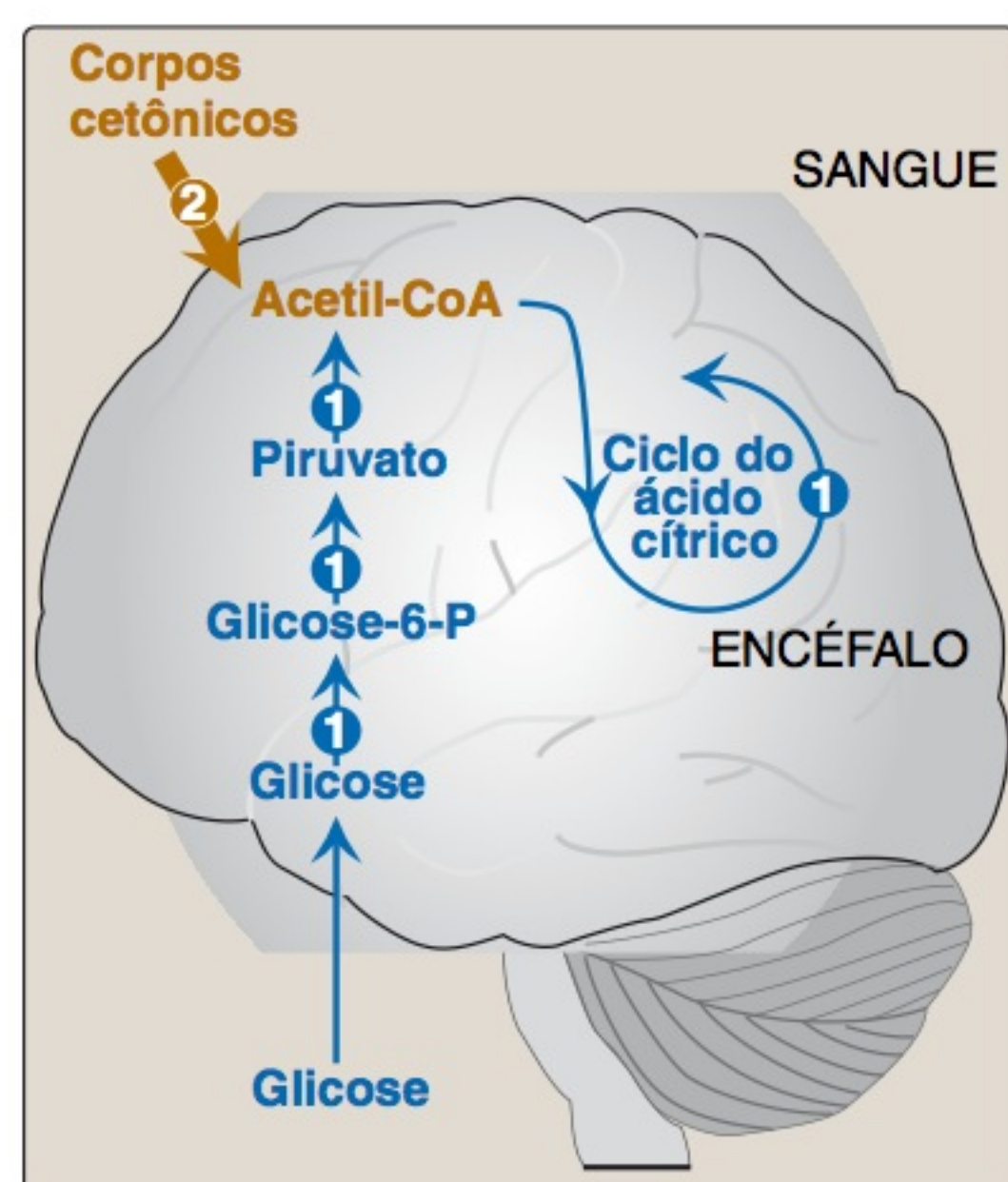


Figura 24.15

As principais rotas metabólicas no encéfalo durante o jejum. (Nota: os números nos círculos, que aparecem na figura e no texto correspondente, indicam rotas importantes para o metabolismo de lipídeos ou carboidratos.)

XII. OS RINS NO JEJUM DE LONGA DURAÇÃO

Com a continuidade do jejum, os rins exercem papel importante na adaptação a longo prazo. Os rins expressam as enzimas da gliconeogênese, incluindo a *glicose-6-fosfatase* e, em fases avançadas do jejum, podem ser responsáveis por cerca de 50% da gliconeogênese. (Nota: parte da glicose produzida é consumida pelos rins). Da mesma forma, os rins compensam a acidose que acompanha o aumento na produção de corpos cetônicos (ácidos orgânicos). A glutamina liberada nos músculos pelo metabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada é captada pelos rins e, sob a ação das enzimas renais *glutaminase* e *glutamato-desidrogenase* (veja a p. 256), resulta na produção de α -cetoglutarato (que pode ser usado como substrato para a gliconeogênese) e amônia (NH_3). A amônia capta prótons (H^+) dissociados de corpos cetônicos e é excretada pela urina como NH_4^+ , diminuindo a acidez corporal. Portanto, no jejum a longo prazo, ocorre troca no tipo de

descarte de nitrogênio, da forma de ureia, para a forma de amônio. (Nota: quando a concentração de corpos cetônicos aumenta, os enterócitos, que comumente consomem glutamina, passam a consumir corpos cetônicos. Isso disponibiliza mais glutamina para os rins.)

XIII. RESUMO DO CAPÍTULO

O fluxo de intermediários através das rotas metabólicas é controlado por quatro mecanismos: 1) disponibilidade de substratos; 2) ativação e inibição alostérica de enzimas; 3) modificação covalente de enzimas; e 4) indução e repressão da síntese de enzimas. No estado absorptivo, esses mecanismos regulatórios asseguram que os nutrientes disponíveis sejam capturados como **glicogênio**, **triacilglicerol** e **proteína** (Figura 24.18). O **estado absorptivo** é o período entre duas e quatro horas depois da ingestão de uma refeição normal. Durante esse intervalo, há aumento transitório de glicose, aminoácidos e triacilgliceróis no plasma, estes últimos como componentes dos quilomicra sintetizados pelas células da mucosa intestinal. O **pâncreas** responde aos níveis elevados de glicose e aminoácidos com **aumento na secreção de insulina** e **queda na liberação de glucagon** pelas **ilhotas de Langerhans**. A elevada razão insulina/glucagon e a fácil disponibilidade dos substratos circulantes fazem desse período de duas a quatro horas após a ingestão de uma refeição um **período anabólico**. Durante esse estado absorptivo, praticamente todos os tecidos utilizam **glicose** como combustível. Além disso, o **fígado** repõe seu estoque de **glicogênio**, repõe as **proteínas hepáticas** necessárias e aumenta a síntese de **triacilgliceróis**. Estes últimos são empacotados em **lipoproteínas de densidade muito baixa** (VLDL) e exportados para os tecidos periféricos. O **tecido adiposo** apresenta aumento na síntese e no armazenamento de **triacilgliceróis**, ao passo que o **músculo** aumenta a síntese de **proteínas** para repor a proteína degradada desde a última refeição. No estado alimentado, o **encéfalo** utiliza exclusivamente glicose como combustível. **Sem a ingestão de alimento**, os níveis plasmáticos de glicose, aminoácidos e triacilgliceróis caem, desencadeando um **declínio na secreção de insulina** e um **aumento na liberação de glucagon** e de **adrenalina**. O decréscimo na razão insulina/glucagon e o decréscimo na disponibilidade de substratos circulantes fazem desse período de privação de nutrientes um **período catabólico**. Isso coloca em movimento uma intensa **troca de substratos** entre o fígado, o tecido adiposo, os músculos e o encéfalo, orientada por duas prioridades: 1) a necessidade de manter os níveis plasmáticos de glicose adequados para sustentar o metabolismo energético do encéfalo e de outros tecidos dependentes de glicose; e 2) a necessidade de mobilizar ácidos graxos do tecido adiposo e corpos cetônicos do fígado para suprir de energia todos os outros tecidos. Para atingir essas metas, o **fígado** degrada **glicogênio** e inicia a **gliconeogênese**, usando a **oxidação aumentada de ácidos graxos** como fonte da energia necessária para a gliconeogênese e para suprir com acetil-coenzima A a **síntese de corpos cetônicos**. O **tecido adiposo** degrada os estoques de **triacilgliceróis**, fornecendo **ácidos graxos** e **glicerol** para o fígado. Os **músculos** podem usar os **ácidos graxos** como combustível, bem como os **corpos cetônicos** fornecidos pelo fígado. A **proteína** muscular é **degradada** para suprir de **aminoácidos** a gliconeogênese hepática. O **encéfalo** pode usar a **glicose** e os **corpos cetônicos** como combustíveis. No jejum prolongado, os **rins** desempenham importantes funções voltadas para a **síntese de glicose** e **excretam prótons** (provenientes das dissociações de corpos cetônicos) como **íon amônio** (NH_4^+).

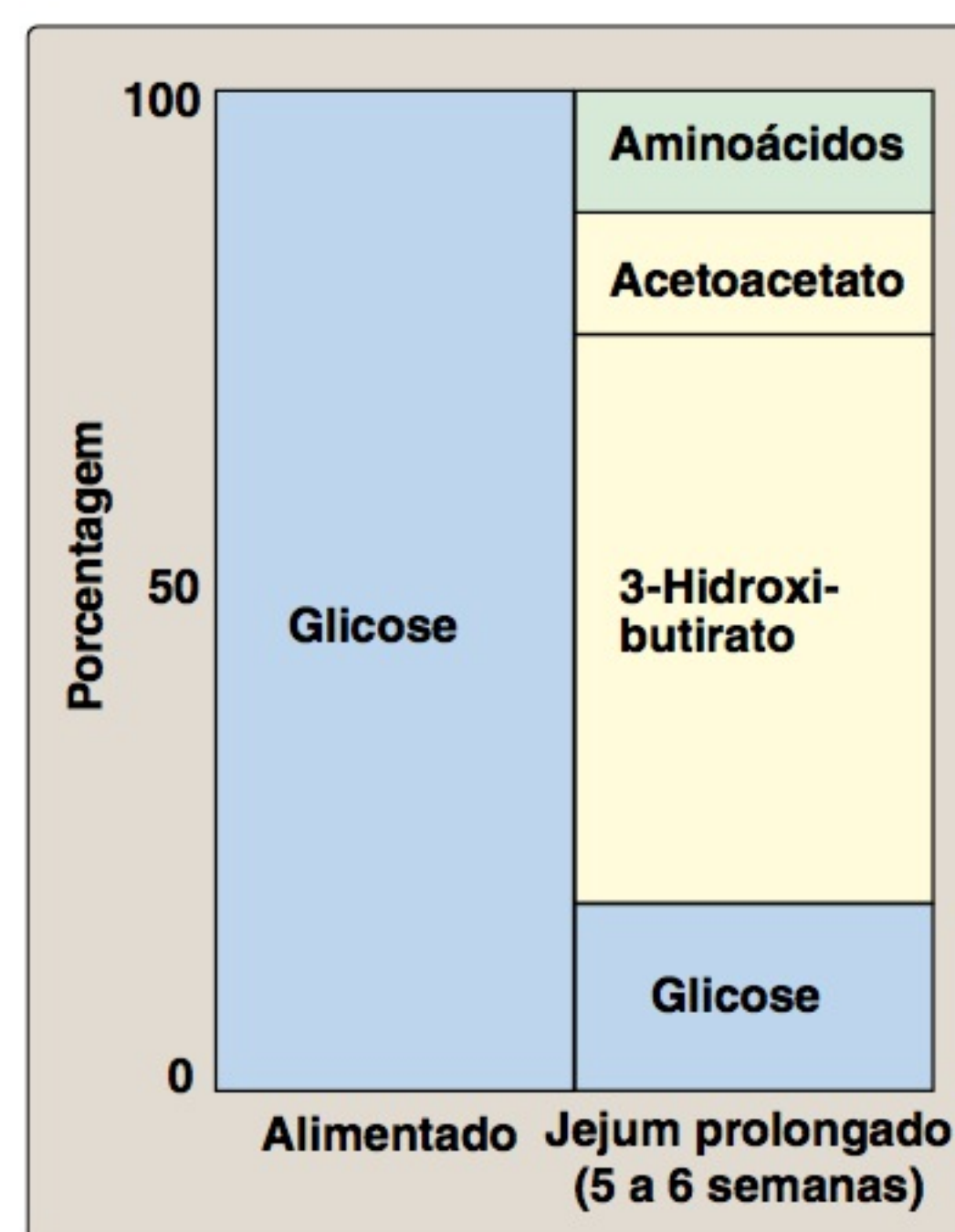
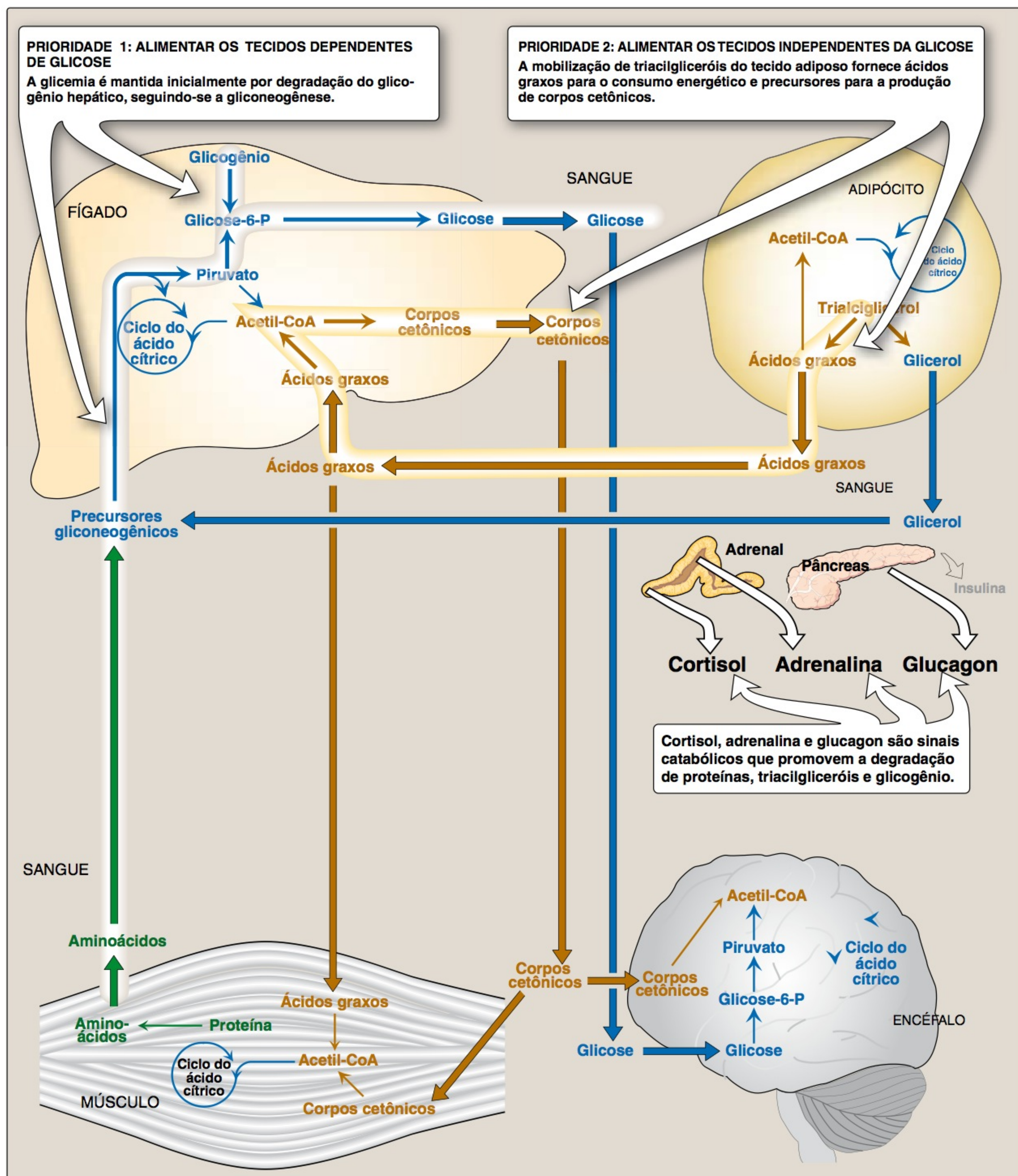


Figura 24.16

Fontes dos combustíveis utilizados pelo encéfalo para satisfazer suas necessidades energéticas.

**Figura 24.17**

As relações entre os tecidos durante o jejum.

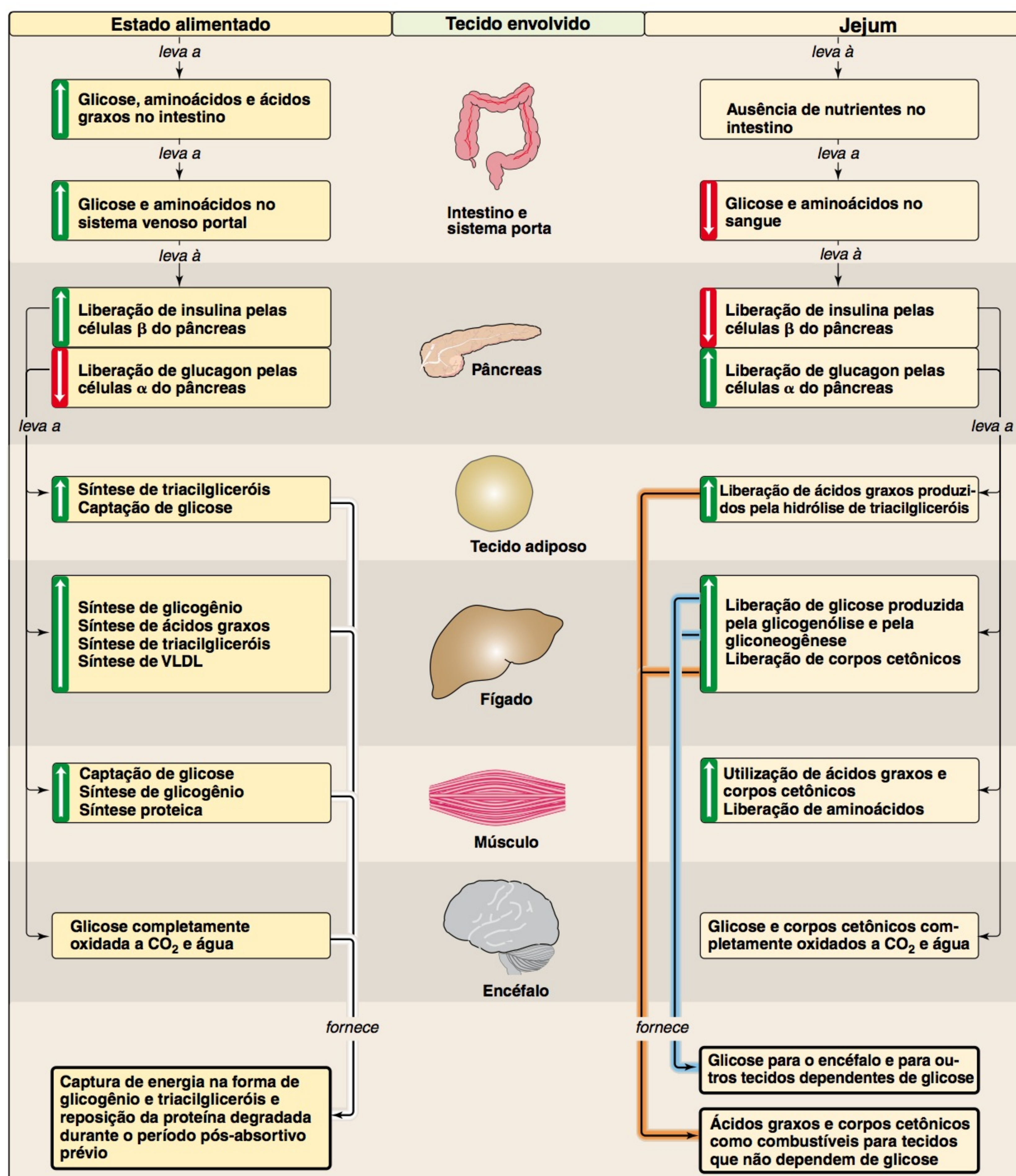


Figura 24.18

Mapa de conceitos-chave para o ciclo alimentado/jejum.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta

24.1 Qual dos seguintes compostos está elevado no plasma durante o período absorptivo (alimentado), quando comparado ao estado pós-absorptivo (jejum)?

- A. Glucagon.
- B. Acetoacetato.
- C. Quilomicra.
- D. Ácidos graxos livres.
- E. Lactato.

Resposta correta = C. Os quilomicra, ricos em TAG, são sintetizados no intestino e dele liberados após a ingestão de alimento. O glucagon está reduzido no período absorptivo. Acetoacetato, ácidos graxos livres e lactato não estão elevados.

24.2 Qual das seguintes afirmações referentes ao estado alimentado está correta?

- A. A maioria das enzimas reguladas por modificação covalente está no estado fosforilado.
- B. A frutose-2,6-bisfosfato hepática está elevada.
- C. A oxidação de acetoacetato está aumentada.
- D. A insulina estimula o transporte de glicose para dentro dos hepatócitos.
- E. A síntese de glicocinase está reprimida.

Resposta correta = B. O aumento da insulina e o decréscimo dos níveis de glucagon, que caracterizam o estado alimentado, promovem a síntese de frutose-2,6-bisfosfato. A maioria das enzimas covalentemente modificadas está no estado desfosforilado e é ativa. O acetoacetato não está elevado no estado alimentado. O transporte de glicose no fígado não é sensível à insulina. A síntese de glicocinase está aumentada no estado alimentado.

24.3 O aumento da formação de corpos cetônicos durante o jejum é devido:

- A. ao decréscimo dos níveis circulantes de glucagon.
- B. ao decréscimo de formação de acetil-CoA no fígado.
- C. ao aumento dos níveis séricos de ácidos graxos livres.
- D. à inibição da β -oxidação de ácidos graxos no fígado.
- E. a um decréscimo da atividade da lipase sensível a hormônio no tecido adiposo.

Resposta correta = C. Os ácidos graxos livres ligados à albumina estão aumentados como resultado do aumento da atividade da lipase sensível a hormônio no tecido adiposo. A cetogênese hepática é estimulada pelos níveis elevados de glucagon. A formação de acetil-CoA está aumentada. A β -oxidação de ácidos graxos no fígado fornece acetil-CoA para a cetogênese.

24.4 Qual das fontes citadas abaixo é a mais importante para a manutenção da glicemia durante as últimas horas de um jejum de 48 horas?

- A. Glicogênio muscular.
- B. Acetoacetato.
- C. Glicogênio hepático.
- D. Aminoácidos.
- E. Lactato.

Resposta correta = D. Os esqueletos carbonados dos aminoácidos glicogênicos são usados para a gliconeogênese hepática. O glicogênio hepático é quase esgotado nas primeiras 12 horas após uma refeição e o glicogênio muscular não libera glicose para o sangue, porque o músculo não tem glicose-6-fosfatase. O acetoacetato é metabolizado a acetil-CoA, que não é glicogênico. O lactato pode originar-se da glicólise anaeróbia no tecido muscular e nos eritrócitos, mas ele é menos importante do que os aminoácidos como fonte de glicose.

Diabetes Melito

25

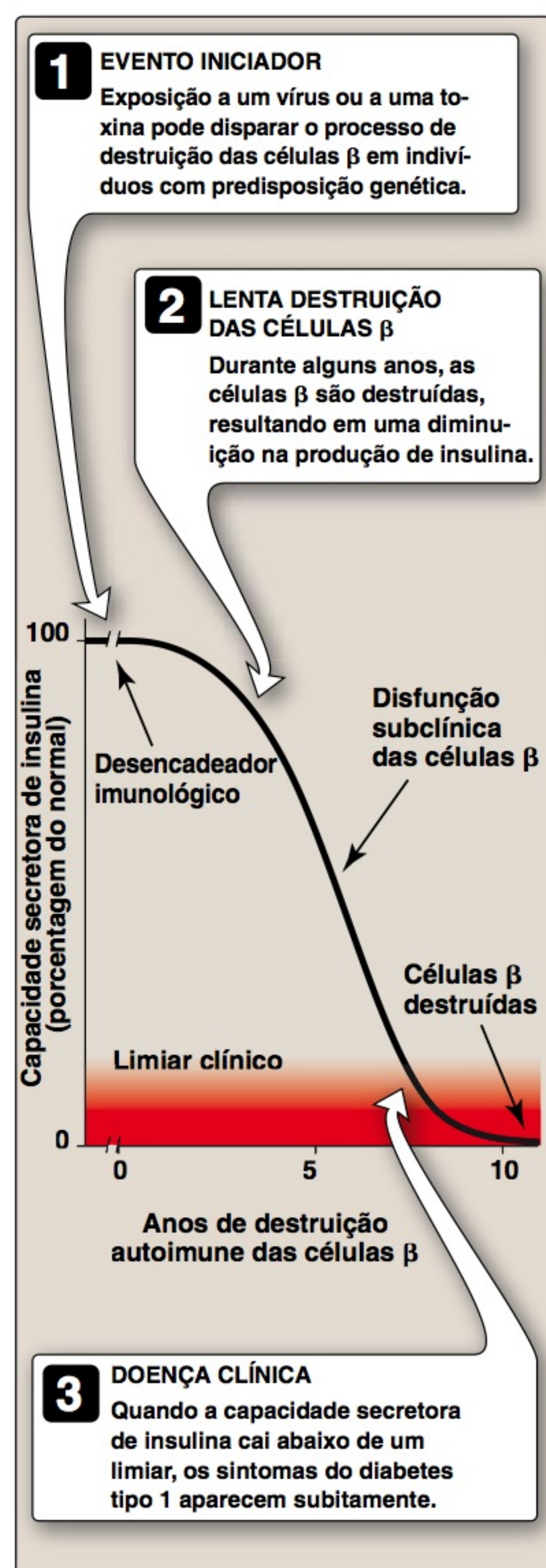
I. VISÃO GERAL DO DIABETES MELITO

O diabetes melito não é uma doença única e sim um grupo heterogêneo de síndromes multifatoriais e poligênicas, caracterizadas por elevação da glicemia em jejum, causada por deficiência relativa ou absoluta de insulina. O diabetes melito é a principal causa de cegueira e amputação no adulto e uma importante causa de falha renal, dano neural, ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais. Os casos de diabetes melito podem, em sua maioria, ser divididos em dois grupos (Figura 25.1), tipo 1 (inicialmente denominado diabetes melito dependente

	Diabetes tipo 1	Diabetes tipo 2
IDADE DE INÍCIO	Geralmente durante a infância ou a puberdade; sintomas desenvolvem-se rapidamente	Frequentemente após os 35 anos; sintomas desenvolvem-se gradualmente
ESTADO NUTRICIONAL NO MOMENTO DO INÍCIO DA DOENÇA	Frequentemente desnutridos	Obesidade geralmente presente
PREVALÊNCIA	10% dos diabéticos diagnosticados	90% dos diabéticos diagnosticados
PREDISPOSIÇÃO GENÉTICA	Moderada	Muito forte
DEFEITO OU DEFICIÊNCIA	Células β são destruídas, eliminando a produção de insulina	Resistência à insulina, combinada com incapacidade das células de produzirem quantidades adequadas de insulina
FREQUÊNCIA DE CETOSE	Comum	Rara
INSULINA PLASMÁTICA	Baixa a ausente	Alta no início da doença; baixa na doença crônica
COMPLICAÇÕES AGUDAS	Cetoacidose	Estado hiperosmolar
TRATAMENTO COM FÁRMACOS HIPOGLICEMIANTE ORAIS	Não é responsivo	Responsivo
TRATAMENTO	Insulina é sempre necessária	Dieta, exercício, fármacos hipoglicemiantes orais; a insulina pode ou não ser necessária. Redução de fatores de risco (pausa no tabagismo, controle da pressão sanguínea, tratamento de dislipidemias) é essencial para a terapia.

Figura 25.1

Comparação entre diabetes tipo 1 e tipo 2.

**Figura 25.2**

Capacidade secretora de insulina durante o início do diabetes tipo 1. (Nota: a taxa de destruição autoimune das células β pode ser mais rápida ou mais lenta do que o mostrado.)

de insulina) e tipo 2 (inicialmente denominado diabetes melito independente de insulina). Calcula-se que aproximadamente 150.000 novos casos de diabetes melito tipo 1 e 1,3 milhões de casos do tipo 2 sejam diagnosticados anualmente nos Estados Unidos. A incidência e a prevalência do tipo 2 está aumentando devido ao envelhecimento da população dos Estados Unidos e ao aumento na prevalência de obesidade e do estilo de vida sedentário (veja a p. 349). O aumento da incidência de diabetes do tipo 2 em crianças é especialmente preocupante.

II. DIABETES TIPO 1

Pessoas com diabetes tipo 1 constituem aproximadamente 10% dos cerca de vinte milhões de diabéticos nos Estados Unidos. A doença é caracterizada por deficiência absoluta de insulina, causada por ataque autoimune às células β do pâncreas. No diabetes tipo 1, as ilhotas de Langerhans tornam-se infiltradas com linfócitos T ativados, levando a uma condição denominada de insulite. Ao longo de alguns anos, esse ataque autoimune leva à depleção gradual da população de células β (Figura 25.2). Contudo, os sintomas aparecem abruptamente quando 80 a 90% das células β foram destruídas. Nesse ponto, o pâncreas falha em responder adequadamente à ingestão de glicose, e a terapia com insulina é necessária para restaurar o controle metabólico e prevenir a cetoacidose grave. A destruição das células β requer um estímulo ambiental (como uma infecção viral) e um determinante genético, que permite às células β serem reconhecidas como “estranhas”. (Nota: entre gêmeos monozigóticos [idênticos], se um deles desenvolve diabetes melito tipo 1, o outro gêmeo tem somente 30 a 50% de chance de desenvolver a doença. Isso contrasta com o diabetes tipo 2 [veja a p. 341], no qual a influência genética é mais forte e, praticamente em todos os casos envolvendo gêmeos monozigóticos, a doença se desenvolve em ambos os indivíduos.)



Pacientes com diabetes tipo 1 praticamente não têm células β e não conseguem responder às variações em combustíveis circulantes, nem manter uma secreção basal de insulina.

A. Diagnóstico do diabetes tipo 1

O início do diabetes tipo 1 ocorre tipicamente durante a infância ou a puberdade, e os sintomas se desenvolvem rapidamente. Pacientes com diabetes tipo 1 geralmente podem ser reconhecidos pelo aparecimento abrupto de poliúria (micção frequente), polidipsia (sede excessiva) e polifagia (fome excessiva), com frequência desencadeados por estresse ou por uma doença. Esses sintomas são geralmente acompanhados por fadiga, perda de peso e fraqueza. O diagnóstico é confirmado por glicemia no jejum maior ou igual a 126 mg/dL, comumente acompanhada por cetoacidose. (Nota: uma glicemia no jejum de 100 a 125 mg/dL é classificada como inadequada.) O jejum é definido como a ausência de ingestão calórica por pelo menos oito horas. Quando o diagnóstico do diabetes tipo 1 é incerto pela apresentação clínica, recomenda-se teste de anticorpos para as células das ilhotas. (Nota: o teste de tolerância à glicose não é rotineiramente usado como ferramenta para diagnóstico de diabetes, pois é difícil de ser realizado na prática e os resultados são altamente variáveis; contudo, é usado para triagem de diabetes gestacional em mulheres grávidas [veja a p. 342].)

B. Alterações metabólicas no diabetes tipo 1

As anormalidades metabólicas do diabetes melito do tipo 1 resultam da deficiência de insulina, a qual afeta de forma marcante o metabolismo de três tecidos: fígado, músculo e tecido adiposo (Figura 25.3).

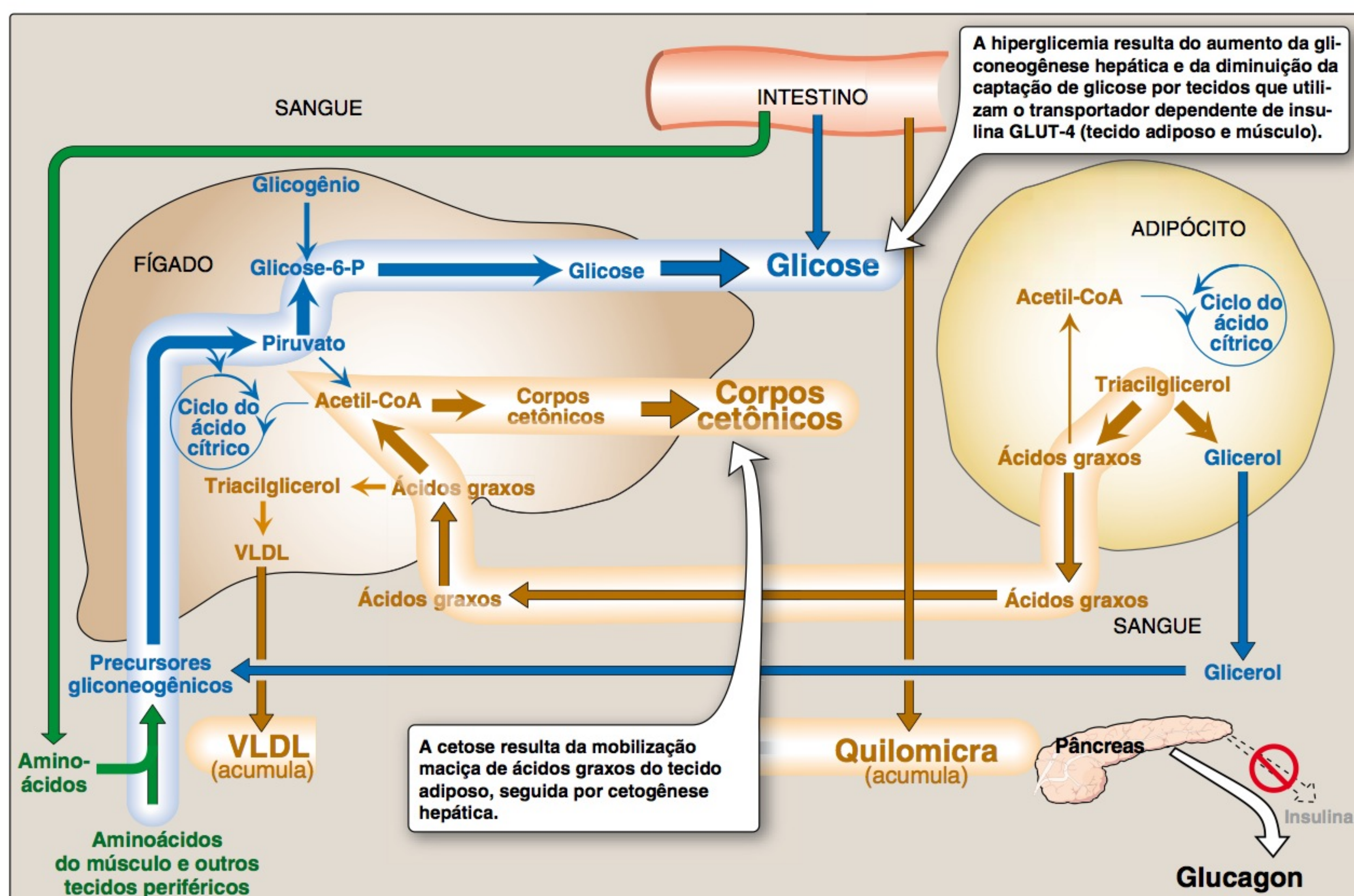


Figura 25.3

Relações interteciduais no diabetes tipo 1.

1. **Hiperglicemia e cetoacidose.** Níveis elevados de glicose e cetonas no sangue são as características do diabetes melito do tipo 1 não tratado (veja a Figura 25.3). A hiperglicemia é causada por aumento na produção hepática de glicose, combinada com diminuição na sua utilização periférica (músculo e tecido adiposo têm o GLUT-4 sensível à insulina, veja a p. 97). A cetose resulta da mobilização aumentada de ácidos graxos do tecido adiposo, combinada com β -oxidação acelerada de ácidos graxos no fígado e aumento na síntese de 3-hidroxibutirato e acetoacetato. (Nota: a acetil-coenzima A proveniente da β -oxidação é substrato para a cetogênese e efetor alostérico da *piruvato carboxilase*, uma enzima gliconeogênica.) A cetoacidose diabética (um tipo de acidose metabólica) ocorre em 25 a 40% dos casos com diagnóstico recente de diabetes tipo 1 e pode ocorrer novamente se o paciente adoecer (mais comumente com infecções) ou não se submete à terapia. A cetoacidose diabética é tratada pela reposição de fluidos e eletrólitos, juntamente com a administração de doses baixas de insulina de ação rápida e de curta duração, para corrigir gradualmente a hiperglicemia sem causar hipoglicemia.
2. **Hipertriacilglicerolemia.** Nem todos os ácidos graxos que chegam ao fígado podem ser oxidados ou utilizados na síntese de corpos cetônicos. O excesso de ácidos graxos é convertido em triacilgliceróis, que são empacotados e secretados em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL, veja a p. 231). Os quilomícras são sintetizados a partir dos lipídeos da dieta, pelas células da mucosa intestinal após a refeição (veja a p. 178). Como a degradação das lipoproteínas

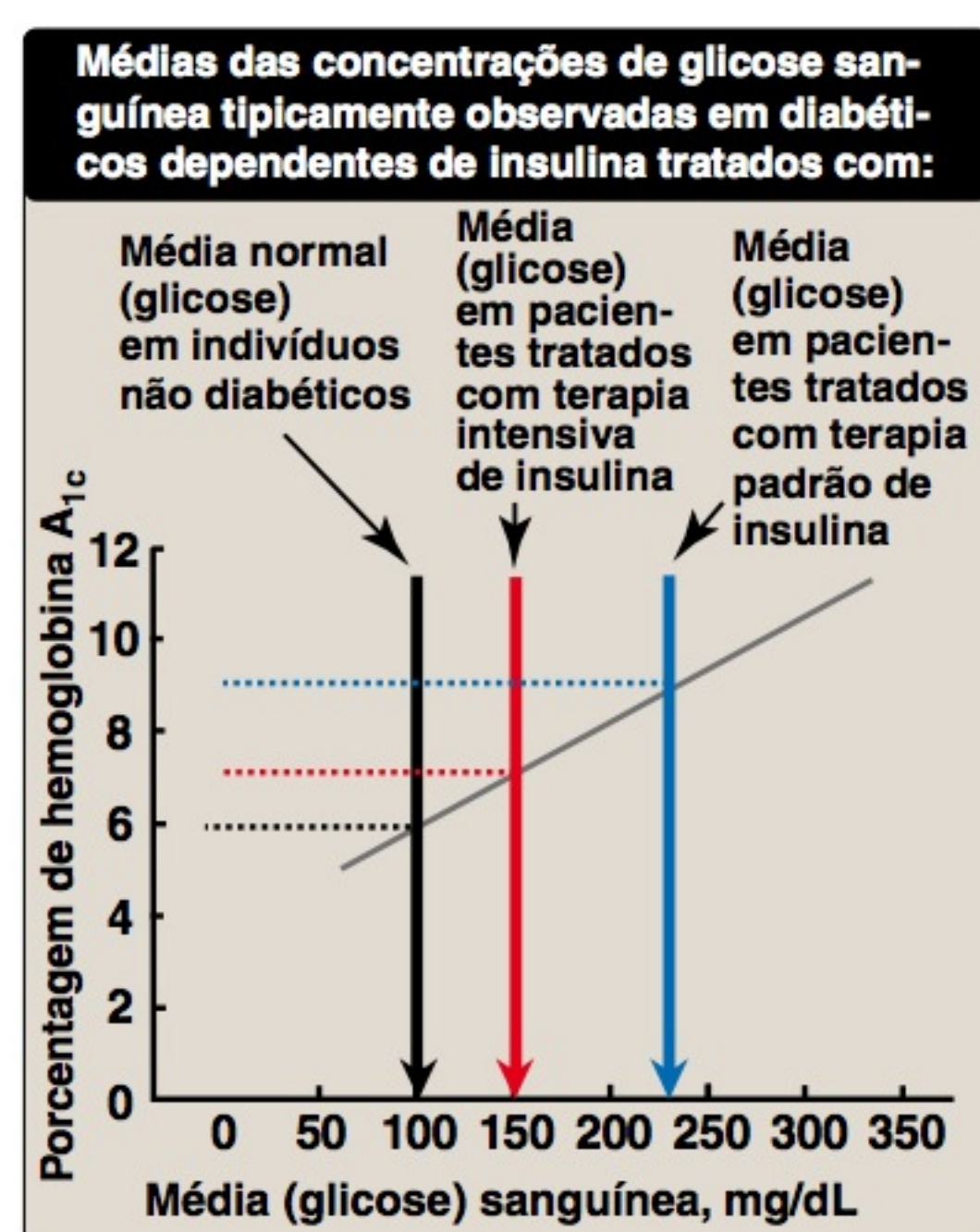


Figura 25.4

Correlação entre a média da glicose sanguínea e HbA_{1c} em pacientes com diabetes tipo 1.

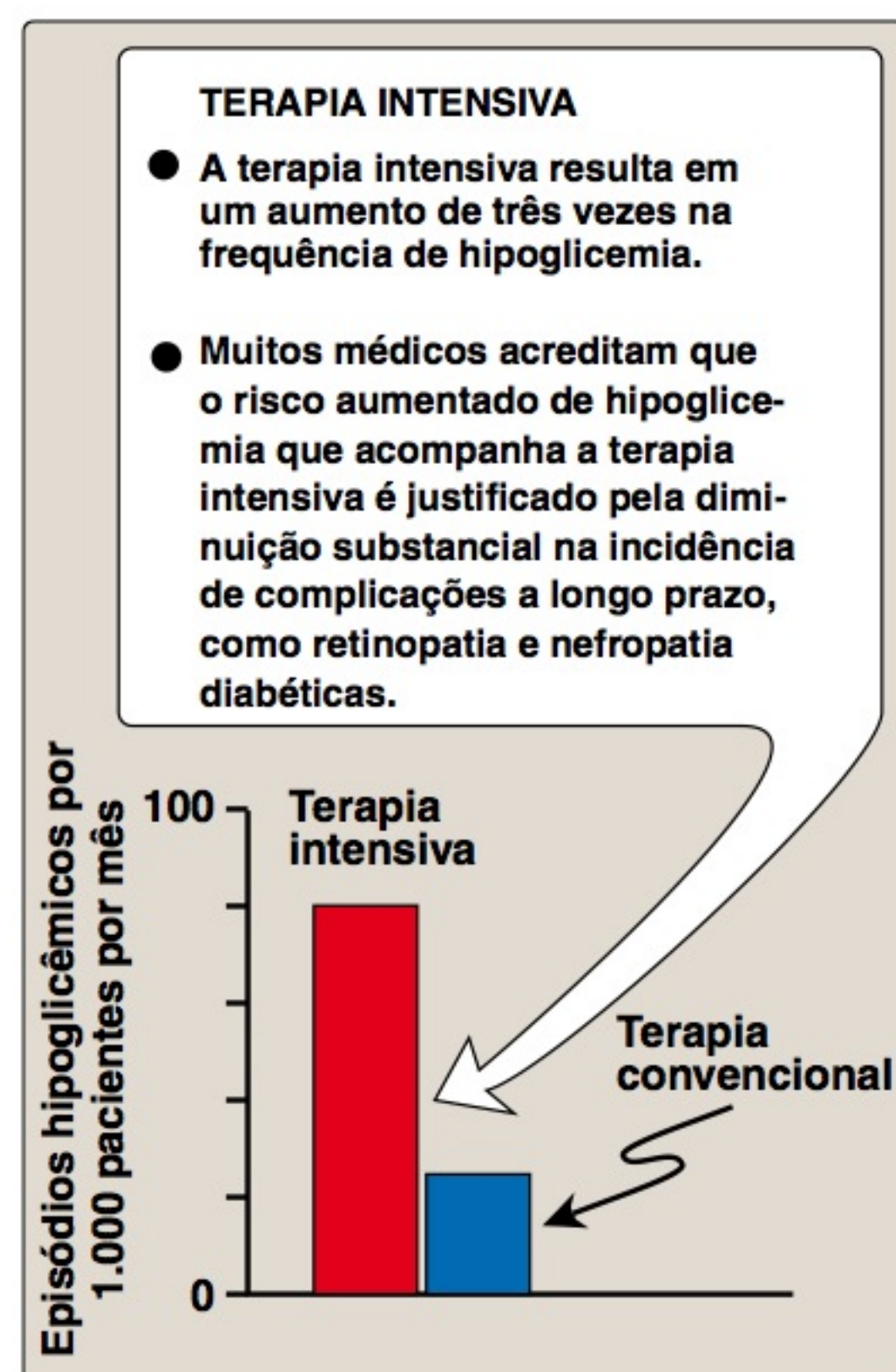


Figura 25.5

Efeito do controle rígido da glicose sobre episódios hipoglicêmicos em uma população de pacientes em terapia intensiva ou em terapia convencional.

nas catalisada pela *lipase lipoproteína* nos capilares do músculo e do tecido adiposo (veja a p. 228) é baixa nos diabéticos (a síntese da enzima é diminuída quando os níveis de insulina estão baixos), os níveis plasmáticos de quilomicra e VLDL se elevam, resultando em hipertriacilglicerolemia (veja a Figura 25.3).

C. Tratamento do diabetes tipo 1

Os diabéticos do tipo 1 dependem de insulina exógena injetada subcutaneamente para controlar a hiperglicemia e a cetoacidose. Dois procedimentos terapêuticos estão atualmente em uso – o tratamento padrão e o tratamento intensivo com insulina.

A insulina pode também ser liberada por uma bomba de infusão, que permite a infusão subcutânea contínua de insulina 24 horas por dia em níveis predeterminados e pode ser programada para infundir doses extras de insulina conforme necessário no momento das refeições.

1. Tratamento padrão versus tratamento intensivo. O tratamento padrão consiste tipicamente em uma ou duas injeções diárias de insulina humana recombinante. Em geral, os níveis médios de glicose sanguínea obtidos com esse tratamento estão na faixa de 225 a 275 mg/dL, com nível de hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) (veja a p. 34) de 8 a 9% do total de hemoglobina (seta azul na Figura 25.4). (Nota: a taxa de formação de HbA_{1c} é proporcional à média da concentração de glicose sanguínea dos últimos 3 meses. Assim, a HbA_{1c} fornece uma medida do grau de eficiência do tratamento na normalização da glicose sanguínea nos diabéticos ao longo do tempo.) Em contraste à terapia padrão, o tratamento intensivo visa normalizar a glicose sanguínea por meio de um monitoramento mais frequente e de subsequentes injeções de insulina – tipicamente três ou mais vezes ao dia. Níveis médios de glicose sanguínea de 150 mg/dL podem ser alcançados com HbA_{1c} de aproximadamente 7% do total da hemoglobina (seta vermelha: Figura 25.4). (Nota: a média normal de glicose sanguínea é de aproximadamente 100 mg/dL e a de HbA_{1c} é de 6% ou menos [seta preta, veja a Figura 25.4].) Assim, a normalização dos níveis de glicose (euglicemia) não é alcançada mesmo em pacientes tratados intensivamente. Contudo, pacientes sob terapia intensiva apresentaram redução de 50% ou mais nas complicações microvasculares a longo prazo do diabetes – retinopatia, nefropatia e neuropatia – quando comparados com pacientes recebendo o tratamento padrão. Isso confirma que as complicações do diabetes estão relacionadas à elevação da glicose plasmática.

2. Hipoglicemia no diabetes tipo 1. Um dos objetivos terapêuticos no diabetes é a diminuição dos níveis de glicose sanguínea no sentido de minimizar o desenvolvimento das complicações a longo prazo da doença (veja a p. 344 para uma discussão das complicações crônicas do diabetes). Entretanto, a dosagem adequada de insulina é difícil de alcançar. A hipoglicemia causada pelo excesso de insulina é a complicação mais comum dessa terapia, ocorrendo em mais de 90% dos pacientes. A frequência de episódios hipoglicêmicos, coma e convulsões é especialmente elevada nos casos de tratamento intensivo, destinados a atingir um controle rígido da glico-

se sanguínea (Figura 25.5). Lembre que, em indivíduos normais, a hipoglicemia desencadeia secreção compensatória de hormônios contrarreguladores, especialmente glucagon e adrenalina, que promovem a produção hepática de glicose. Entretanto, os pacientes com diabetes tipo 1 desenvolvem também deficiência na secreção do glucagon. Esse problema surge no começo da doença e está presente em quase todos os casos quatro anos após o diagnóstico. Assim, esses pacientes dependem da secreção de adrenalina para prevenir uma hipoglicemia grave. Com o progresso da doença, no entanto, os pacientes com diabetes tipo 1 apresentam neuropatia diabética autonômica (neurovegetativa) e diminuição na secreção de adrenalina em resposta à hipoglicemia. A deficiência combinada da secreção de glucagon e de adrenalina cria uma condição algumas vezes denominada de “hipoglicemia despercebida”. Desse modo, pacientes com diabetes há longo tempo são especialmente vulneráveis à hipoglicemia. A hipoglicemia pode ser causada também por exercício intenso. O exercício promove a captação de glicose pelo músculo e diminui a necessidade de insulina exógena. Os pacientes devem, portanto, averiguar os níveis de glicose sanguínea antes ou após exercício intenso para prevenir ou conter a ocorrência de hipoglicemia.

3. **Contraindicações para o controle rígido.** Crianças não são colocadas no programa de controle rígido de glicose no sangue, pois os episódios de hipoglicemia podem prejudicar o desenvolvimento do encéfalo. Pessoas idosas tipicamente não seguem o controle rígido, pois a hipoglicemia pode causar, nessa população, acidente vascular cerebral e ataque cardíaco. Além disso, o maior objetivo do controle rígido é prevenir complicações anos mais tarde. O controle rígido é mais vantajoso para pessoas saudáveis (excluindo-se o diabetes), com expectativa de no mínimo mais dez anos de vida.

III. DIABETES TIPO 2

O diabetes tipo 2 é a forma mais comum da doença, atingindo cerca de 90% da população diabética dos Estados Unidos. (Nota: americanos nativos, latinos, afro-americanos e americanos asiáticos tem a mais alta prevalência.) Caracteristicamente, o diabetes tipo 2 se desenvolve de modo gradual, sem sintomas óbvios. A doença é com frequência detectada por exames de triagem de rotina. Entretanto, muitos indivíduos com diabetes tipo 2 apresentam sintomas de poliúria e polidipsia de várias semanas de duração. A polifagia pode estar presente, mas é menos comum. Os pacientes com diabetes tipo 2 apresentam uma combinação de resistência à insulina com disfunção das células β (Figura 25.6), mas não necessitam de insulina para manter a vida, embora a insulina possa ser necessária em algum momento para controlar a hiperglicemia e manter a HbA_{1c} abaixo de 7% em 90% dos pacientes. As alterações metabólicas observadas no diabetes tipo 2 são mais brandas do que as descritas para o tipo 1, em parte, porque a secreção da insulina no diabetes tipo 2 – embora inadequada – impede a cetogênese excessiva e restringe o desenvolvimento da cetoacidose diabética. O diagnóstico baseia-se mais comumente na presença de hiperglicemia – isto é, uma concentração de glicose sanguínea no jejum igual ou superior a 126 mg/dL. A patogênese não envolve viroses ou anticorpos autoimunes. (Nota: uma complicação aguda do tipo 2 na velhice é um estado hiperglicêmico hiperosmolar caracterizado por hiperglicemia e desidratação graves, além de estado mental alterado.)

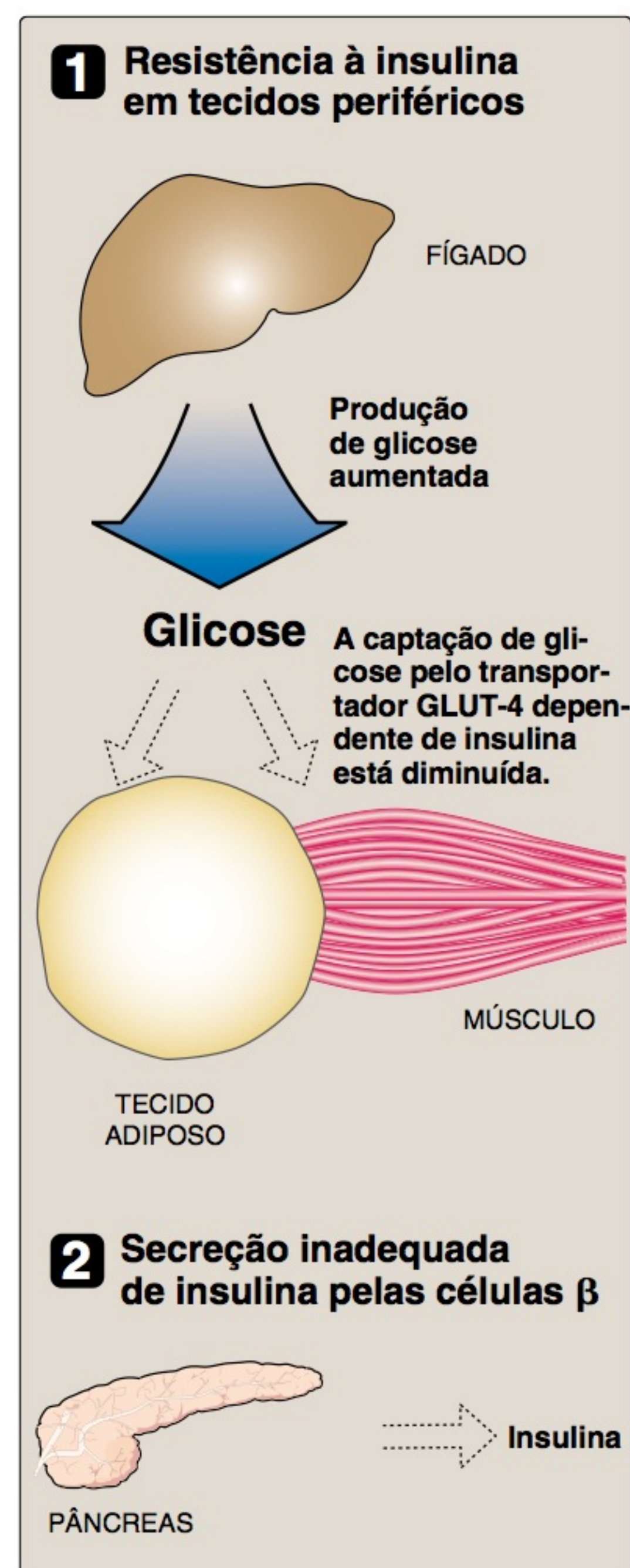


Figura 25.6

Principais fatores que contribuem para a hiperglicemia observada no diabetes tipo 2.



O diabetes melito tipo 2 é caracterizado por hiperglicemia, resistência à insulina e relativa diminuição na secreção de insulina.

A. Resistência à insulina

A resistência à insulina é a diminuição na capacidade dos tecidos-alvo, como fígado, tecido adiposo e músculo, de responder adequadamente às concentrações circulantes normais (ou elevadas) de insulina. Por exemplo, a resistência à insulina é caracterizada por produção não controlada de glicose hepática e por captação diminuída de glicose pelo músculo e pelo tecido adiposo.

1. **Resistência à insulina e obesidade.** A obesidade é a causa mais comum de resistência à insulina; contudo, a maioria das pessoas obesas e resistentes à insulina não se torna diabética. Na ausência de um defeito na função das células β , indivíduos obesos não diabéticos podem compensar a resistência à insulina com níveis elevados desse hormônio. Por exemplo, a Figura 25.7A mostra que a secreção de insulina é duas a três vezes maior em indivíduos obesos do que em indivíduos magros. Essa maior concentração de insulina compensa o seu efeito diminuído (como resultado da resistência à insulina) e leva a níveis de glicose sanguínea similares àqueles observados em indivíduos magros (Figura 25.7B).
2. **Resistência à insulina e diabetes tipo 2.** A resistência à insulina sozinha não levará ao diabetes tipo 2. O diabetes tipo 2 se desenvolve em indivíduos resistentes à insulina que também apresentam diminuição na função das células β . Em geral, a resistência à insulina com o risco subsequente de desenvolvimento do diabetes tipo 2 é comumente observada em idosos e em indivíduos obesos, sedentários, ou nos 3 a 5% de mulheres grávidas que desenvolvem diabetes gestacional. Esses pacientes são incapazes de compensar adequadamente a resistência à insulina com a liberação aumentada de insulina. A Figura 25.8 mostra o curso temporal para o desenvolvimento de hiperglicemia e a perda de células β funcionais.

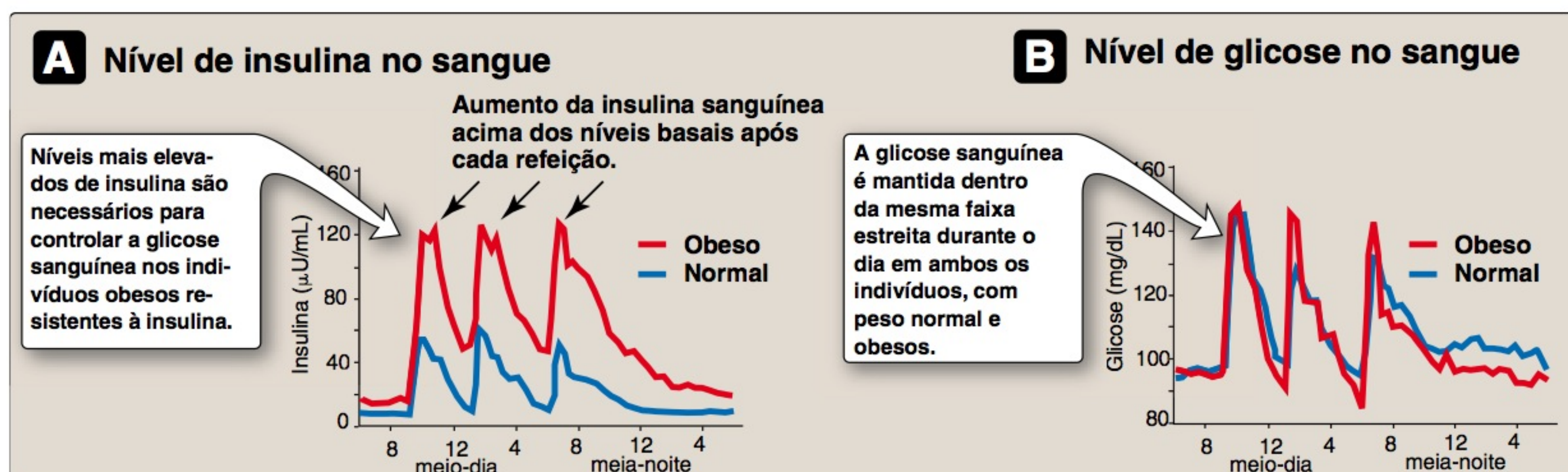
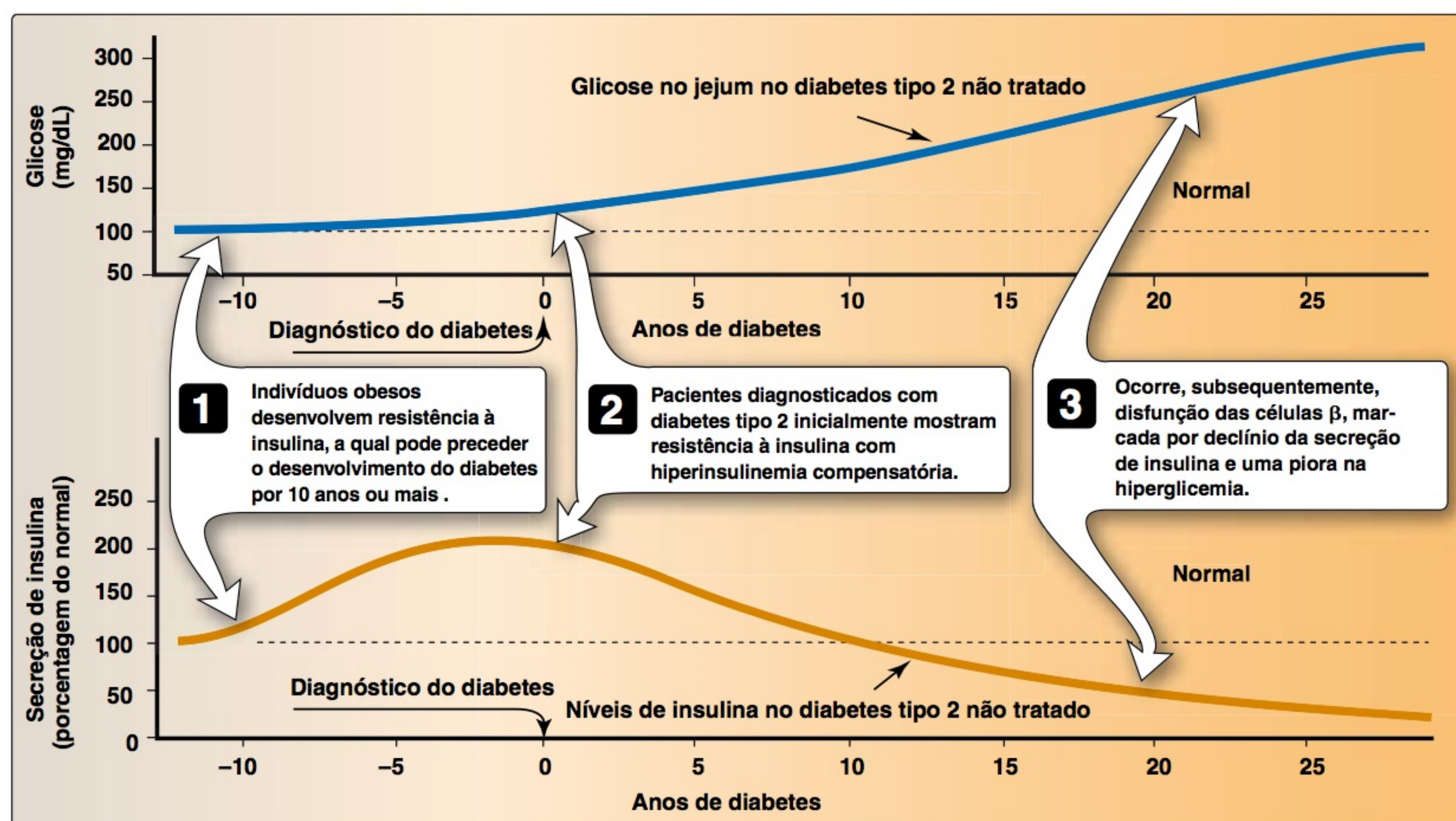


Figura 25.7

Níveis sanguíneos de insulina e de glicose em indivíduos com peso normal e em obesos.


Figura 25.8

Progressão dos níveis sanguíneos de glicose e de insulina em pacientes com diabetes tipo 2.

3. **Causas da resistência à insulina.** A resistência à insulina aumenta com o ganho de peso e diminui com a perda de peso. Isso sugere que o acúmulo de lipídeos é importante no desenvolvimento da resistência à insulina. O tecido adiposo não é simplesmente um órgão de armazenamento de energia, mas também um órgão secretório. As substâncias reguladoras produzidas pelos adipócitos incluem a leptina (veja a p. 353) e a adiponectina (veja a p. 353), as quais podem contribuir para o desenvolvimento da resistência à insulina. Além disso, os níveis elevados de ácidos graxos livres que ocorrem na obesidade têm sido também implicados no desenvolvimento da resistência à insulina. (Nota: ácidos graxos livres também provêm da lipólise no tecido adiposo resistente à insulina.)

B. Células β disfuncionais

No diabetes tipo 2, a capacidade das células β do pâncreas é inicialmente mantida, resultando em níveis de insulina que variam desde acima até abaixo do normal. Entretanto, com o decorrer do tempo, as células β tornam-se progressivamente disfuncionais, sendo incapazes de secretar insulina suficiente para corrigir a hiperglicemia preponderante. Por exemplo, os níveis de insulina são altos em típicos pacientes obesos com diabetes tipo 2, mas não são tão altos quanto em indivíduos não diabéticos de obesidade similar. Assim, a progressão natural da doença resulta no declínio da capacidade de controlar a hiperglicemia com secreção endógena de insulina (Figura 25.9). A deterioração da função das células β pode ser acelerada pelos efeitos tóxicos da hiperglicemia persistente e pelo aumento dos ácidos graxos livres.

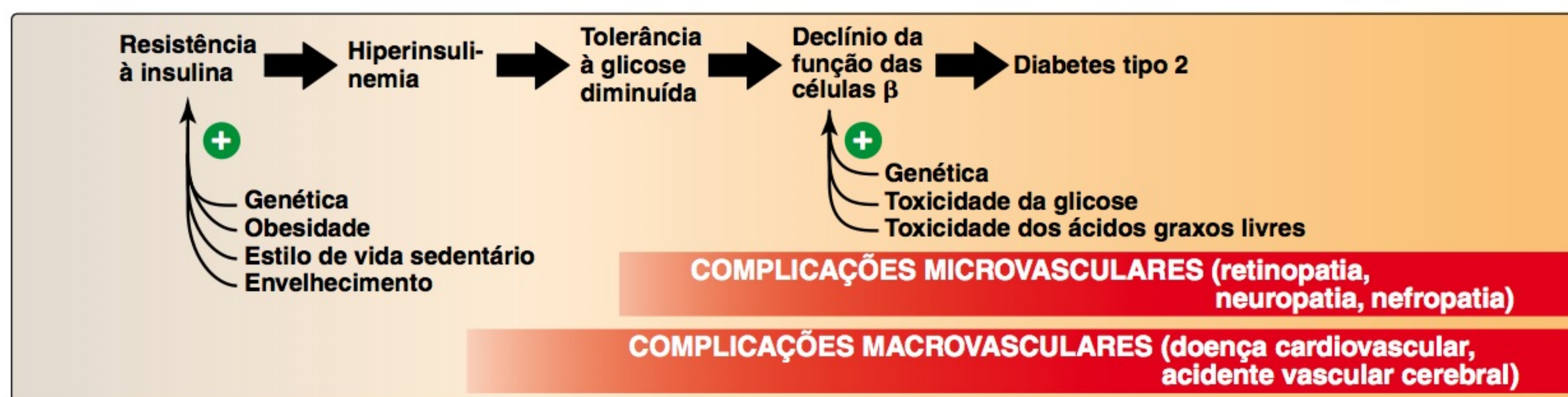


Figura 25.9

Progressão típica do diabetes tipo 2.

C. Alterações metabólicas no diabetes tipo 2

As anormalidades metabólicas do diabetes melito tipo 2 são o resultado da resistência à insulina, que se expressa principalmente no fígado, no músculo e no tecido adiposo (Figura 25.10).

1. **Hiperglicemia.** A hiperglicemia é causada por aumento na produção de glicose hepática, combinado com diminuição na sua utilização periférica. Em geral, a cetose é mínima ou ausente em pacientes com diabetes tipo 2, pois a presença de insulina – mesmo na presença de resistência à insulina – diminui a cetogênese hepática. (Nota: metformina, um agente oral para o tratamento do diabetes tipo 2, inibe a gliconeogênese hepática¹.)
2. **Dislipidemia.** No fígado, os ácidos graxos são convertidos em triacilgliceróis, que são empacotados e secretados como VLDL. Os quilomicra são sintetizados a partir dos lipídeos da dieta pelas células da mucosa intestinal após uma refeição (veja a p. 177). Como a degradação das lipoproteínas, catalisada pela *lipase lipoproteica no tecido adiposo (e no músculo, veja a p. 228)*, é baixa nos diabéticos, os níveis plasmáticos de quilomicra e de VLDL se elevam, resultando em hipertriacilglicerolemia (veja a Figura 25.10). Baixos níveis de HDL estão também associados a diabetes tipo 2.

D. Tratamento do diabetes tipo 2

O objetivo do tratamento do diabetes tipo 2 é manter as concentrações sanguíneas de glicose dentro de limites normais e prevenir o desenvolvimento de complicações a longo prazo. Redução de peso, exercício e terapia nutricional médica (modificações na dieta) frequentemente corrigem a hiperglicemia do diabetes tipo 2 recém-diagnosticado. Agentes hipoglicemiantes ou terapia com insulina podem ser necessários para atingir níveis satisfatórios de glicose plasmática.

IV. EFEITOS CRÔNICOS E PREVENÇÃO DO DIABETES

Como observado anteriormente, as terapias disponíveis restringem a hiperglicemia do diabetes, mas não são capazes de normalizar completa-



¹Veja o Capítulo 24 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca da utilização de agentes hipoglicêmicos no tratamento do diabetes.

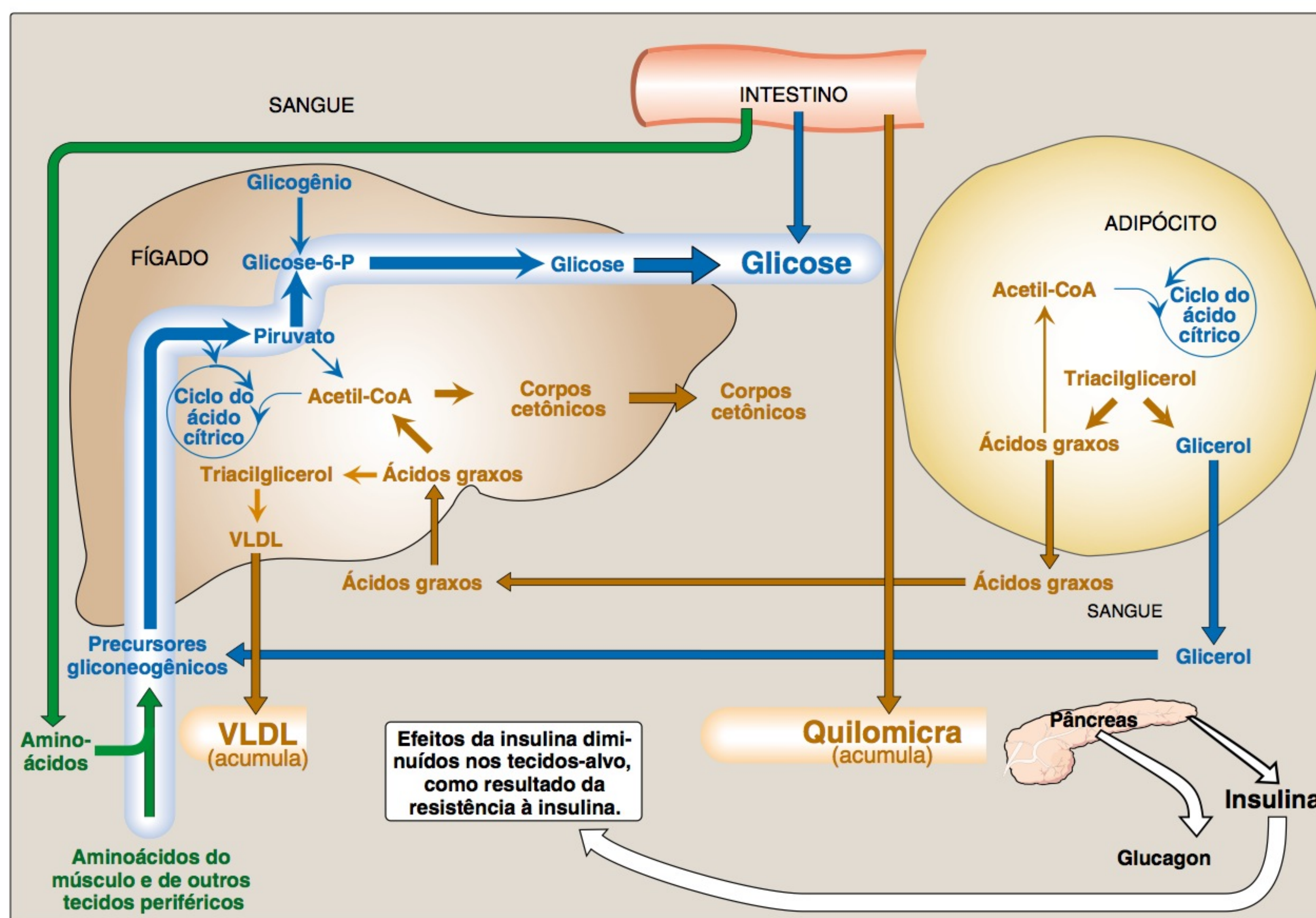


Figura 25.10

Relações interteciduais no diabetes tipo 2.

mente o metabolismo. A persistente elevação da glicemia está associada às complicações crônicas do diabetes – aterosclerose prematura (incluindo doença cardiovascular e acidente vascular cerebral), retinopatia, nefropatia e neuropatia. O tratamento intensivo com insulina (veja a p. 340) retarda o início e diminui a progressão dessas complicações crônicas. Por exemplo, a incidência de retinopatia diminui com o melhor controle da glicemia e a diminuição dos níveis de HbA_{1c} (Figura 25.11). Os benefícios do controle rígido da glicemia superam os riscos aumentados de hipoglicemia grave na maioria dos pacientes. Ainda não está esclarecido como a hiperglicemia causa as complicações crônicas do diabetes. Em células em que a entrada de glicose não é dependente de insulina, níveis elevados de glicose sanguínea levam ao aumento da glicose intracelular e de seus metabólitos. Por exemplo, o aumento intracelular de sorbitol contribui para a formação da catarata (veja a p. 140) em diabéticos. Além disso, a hiperglicemia promove a condensação não enzimática da glicose com proteínas celulares em uma reação análoga à formação de HbA_{1c} (veja a p. 34). Essas proteínas glicadas medeiam algumas das alterações microvasculares precoces do diabetes. Até o momento, não existe tratamento preventivo para o diabetes tipo 1. O risco para o diabetes tipo 2 pode ser significativamente diminuído por um regime combinado de terapia nutricional médica, perda de peso, exercício e controle rigoroso da hipertensão e de dislipidemias. Por exemplo, a Figura 25.12 mostra a incidência da doença em indivíduos normais e com sobrepeso com diferentes graus de exercício. Os benefícios da terapia intensiva sobre doenças cardiovasculares não têm sido demonstrados em indivíduos

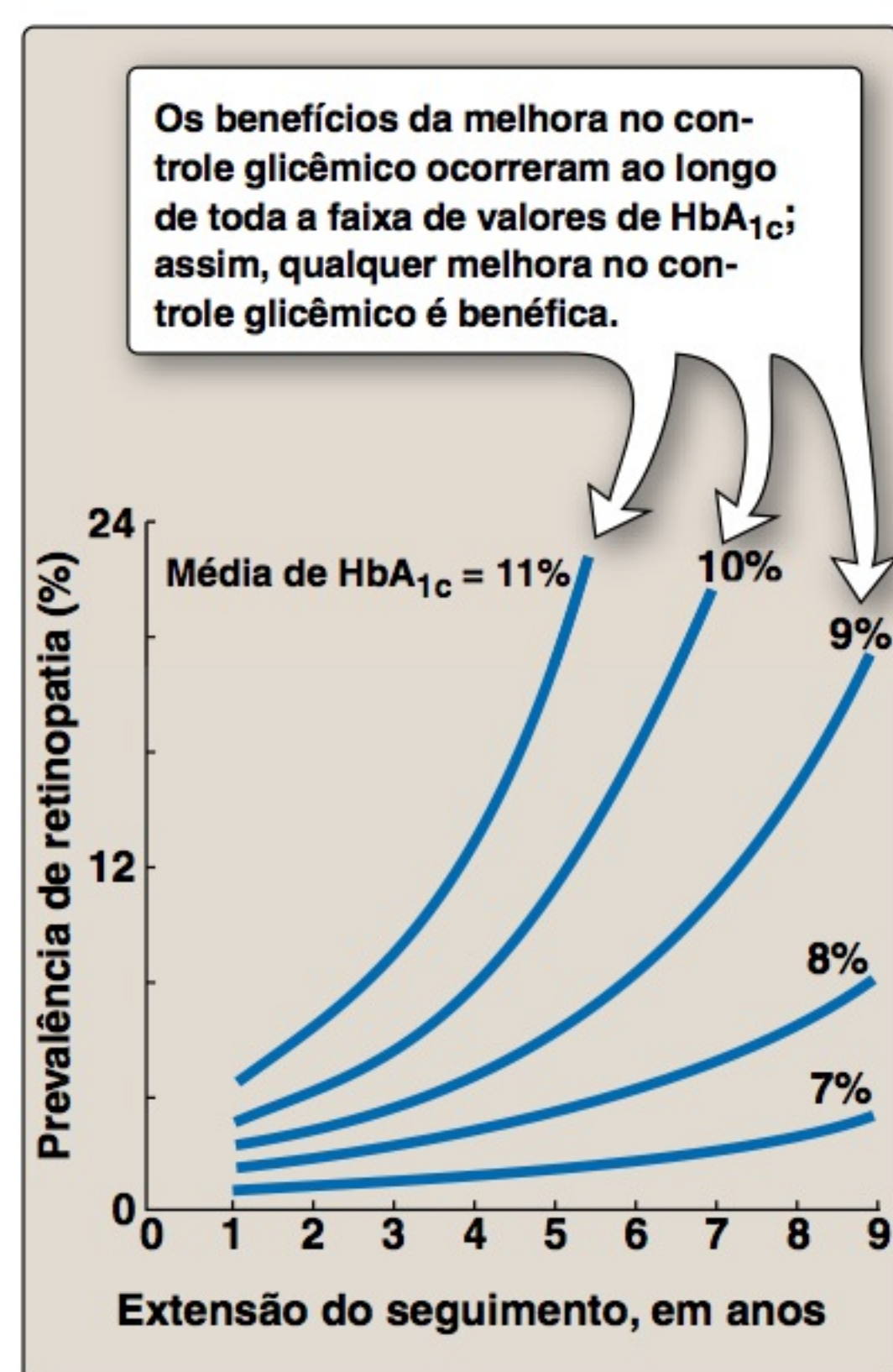


Figura 25.11

Relação entre controle glicêmico e retinopatia diabética.

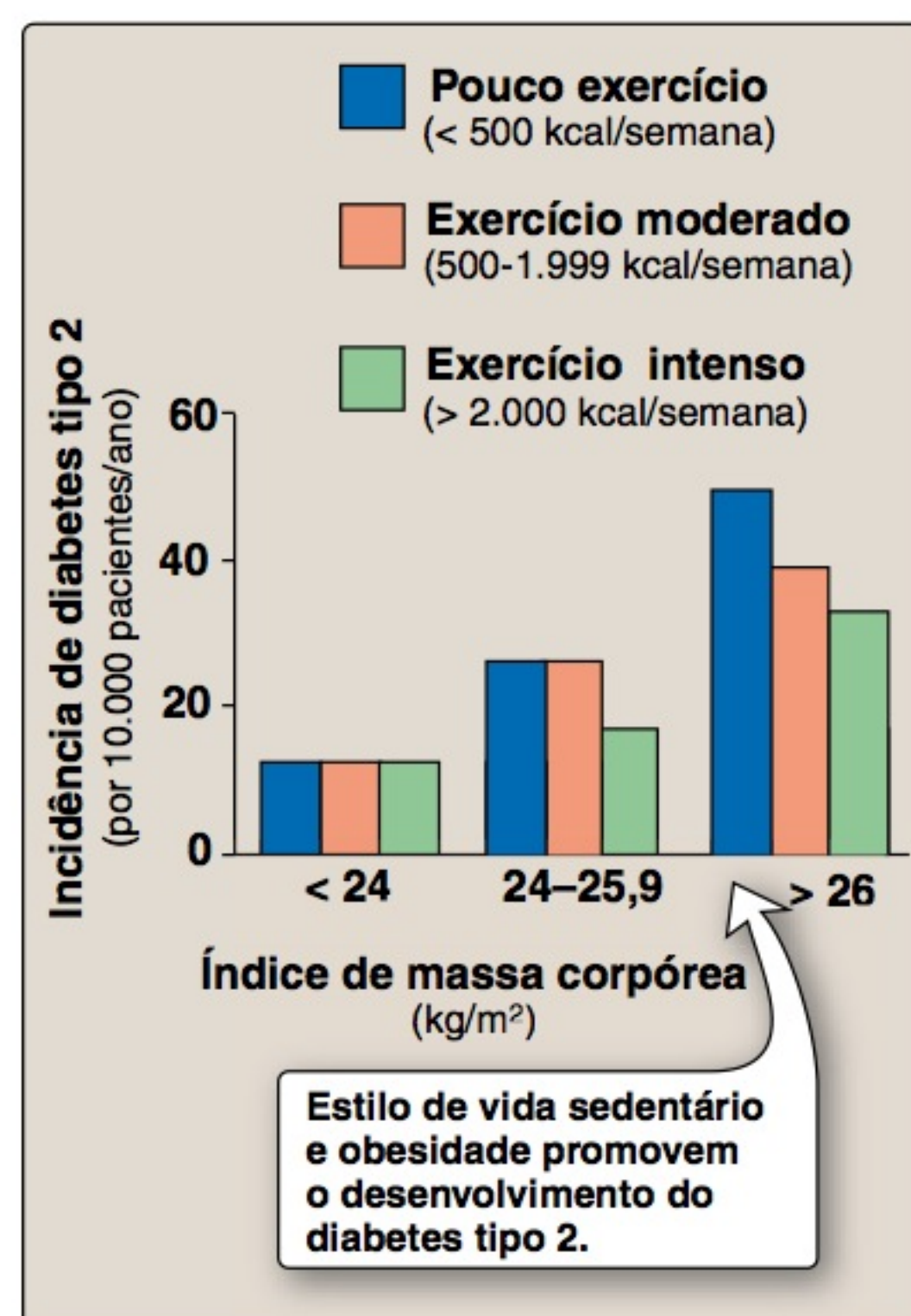


Figura 25.12

Efeito do peso corporal e do exercício sobre o desenvolvimento do diabetes tipo 2.

com diabetes tipo 2 crônico. Em contraste, o controle intensivo inicial em indivíduos com diabetes recém-diagnosticado tem benefícios a longo prazo, com diminuição do risco de infarto do miocárdio, morte relacionada ao diabetes, e morte de modo geral. As evidências clínicas, portanto, apoiam a terapia intensiva na fase inicial com o objetivo de diminuir os níveis de HbA_{1c} para abaixo de 7% o mais cedo possível no curso do diabetes.

V. RESUMO DO CAPÍTULO

O **diabetes melito** é um grupo heterogêneo de síndromes, caracterizado pela **elevação da glicose sanguínea no jejum**, que é causada por deficiência relativa ou absoluta de insulina (Figura 25.13). O diabetes é a causa principal de **amputação** e de **cegueira em adultos** e uma causa importante de **insuficiência renal**, **dano neural**, **ataque cardíaco** e **acidente vascular cerebral**. A doença pode ser classificada em dois grupos, tipo 1 e tipo 2. Os diabéticos do **tipo 1** constituem aproximadamente 10% dos diabéticos nos Estados Unidos. Essa doença é caracterizada por **deficiência absoluta de insulina** causada por **ataque autoimune às células β do pâncreas**. Essa destruição necessita de um **estímulo ambiental** (como infecção viral) e um **determinante genético** que permite às células β serem reconhecidas como “estranhas”. As **anormalidades metabólicas** do diabetes melito tipo 1 incluem **hiperglicemia**, **cetoacidose** e **hipertriacilglicerolemia**. Elas resultam da deficiência de insulina e do excesso relativo de glucagon. Os diabéticos tipo 1 dependem de **insulina exógena** injetada subcutaneamente para controlar a hiperglicemia e a cetoacidose. O diabetes **tipo 2** possui um forte componente **genético**. Resulta da combinação da **resistência à insulina** com a **disfunção das células β**. Resistência à insulina é a diminuição na capacidade dos tecidos-alvo, como fígado, tecido adiposo e músculo, de responder adequadamente às concentrações circulantes normais (ou elevadas) de insulina. A **obesidade** é a causa mais comum da resistência à insulina. Contudo, a maioria das pessoas obesas e resistentes à insulina não se torna diabética. Na ausência de defeito na função das células β, indivíduos **obesos não diabéticos** podem compensar a resistência à insulina com **níveis elevados de insulina**. A resistência à insulina *sozinha* não leva ao diabetes tipo 2. O que ocorre é que o diabetes tipo 2 se desenvolve em indivíduos resistentes à insulina que também apresentam função diminuída das células β. As **alterações metabólicas** observadas no diabetes tipo 2 são mais **brandas** do que aquelas descritas para a forma insulino-dependente da doença, em parte porque a secreção de insulina no diabetes tipo 2 – embora inadequada – restringe a cetogênese e o desenvolvimento da cetoacidose diabética. Os tratamentos disponíveis para o diabetes moderam a hiperglicemia, mas falham em normalizar completamente o metabolismo. A elevação crônica da glicose sanguínea está associada às **complicações crônicas do diabetes** – **aterosclerose prematura**, **retinopatia**, **nefropatia** e **neuropatia**.

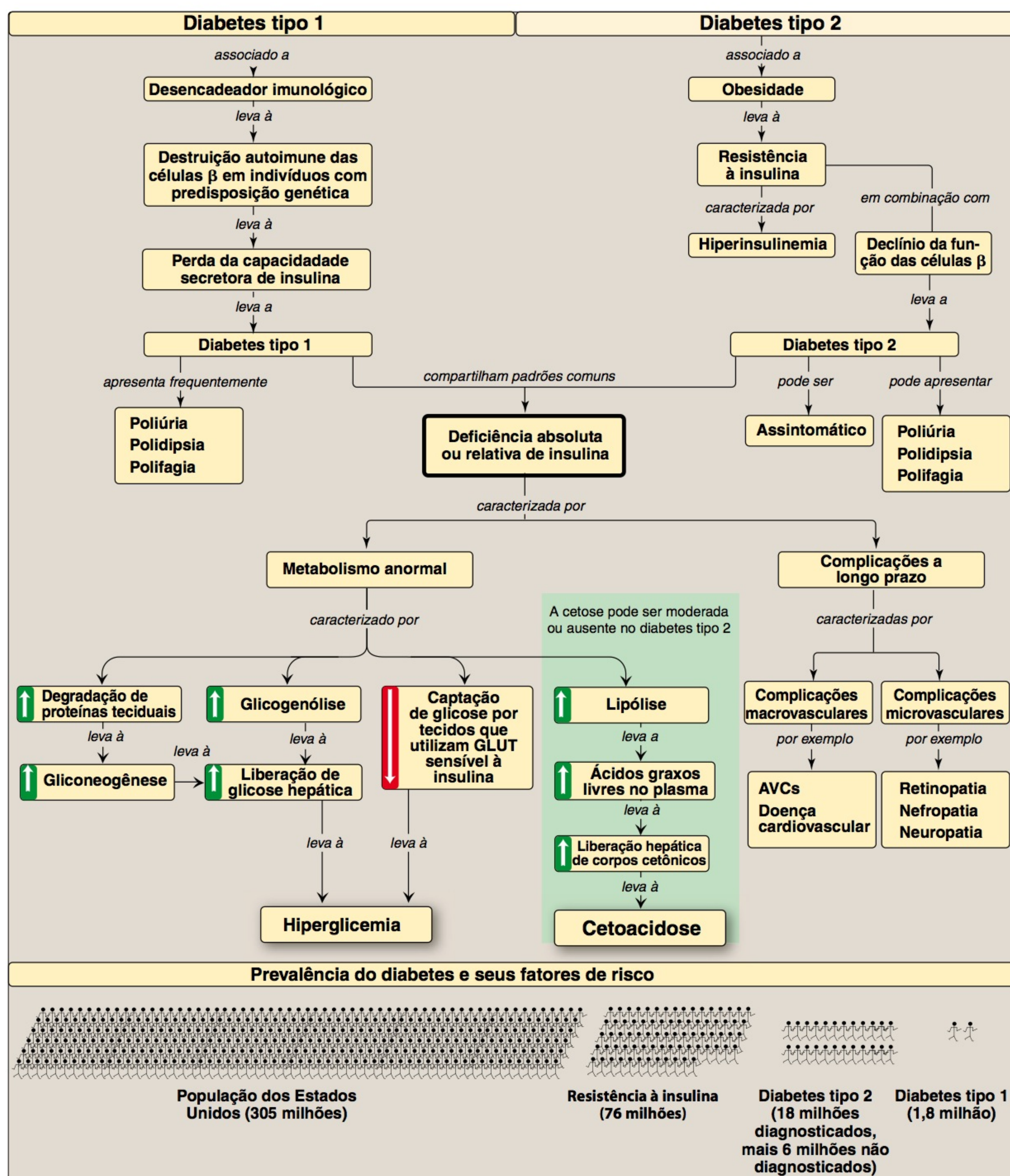


Figura 25.13

Mapa de conceitos-chave para o diabetes.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

25.1 A diminuição relativa ou absoluta de insulina em humanos resultaria em qual das seguintes reações no fígado?

- A. Síntese aumentada de glicogênio.
- B. Gliconeogênese a partir do lactato diminuída.
- C. Glicogenólise diminuída.
- D. Formação de 3-hidroxibutirato aumentada.
- E. Ação da lipase sensível a hormônio diminuída.

Resposta correta = D. Os baixos níveis de insulina favorecem a produção hepática de corpos cetônicos, utilizando a acetil-coenzima A gerada pela β -oxidação de ácidos graxos provenientes do tecido adiposo. Níveis baixos de insulina também causam ativação da lipase sensível a hormônio, diminuição na síntese de glicogênio e aumento na gliconeogênese e na glicogenólise.

25.2 Qual das seguintes situações é mais frequentemente encontrada nos pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 não tratados?

- A. Hiperglicemia.
- B. Níveis extremamente baixos de síntese e secreção de insulina.
- C. Síntese de uma insulina com sequência anormal de aminoácidos.
- D. Um padrão simples de herança genética.
- E. Cetoacidose.

Resposta correta = A. Níveis elevados de glicose sanguínea ocorrem no diabetes tipo 1, como resultado da falta de insulina. No diabetes tipo 2, a hiperglicemia é devida a um defeito na função das células β e à resistência à insulina. A sequência de aminoácidos da insulina não está alterada no diabetes. Ambas as formas da doença apresentam genética complexa. A cetoacidose é mais comum no diabetes tipo 1.

25.3 Um indivíduo obeso com diabetes tipo 2:

- A. geralmente mostra um início súbito dos sintomas.
- B. geralmente apresenta um nível plasmático de insulina menor que um indivíduo normal.
- C. geralmente apresenta significativa melhora na tolerância à glicose se o peso corporal é reduzido até atingir um peso normal.
- D. geralmente se beneficia ao receber insulina cerca de 6 horas após uma refeição.
- E. geralmente apresenta níveis plasmáticos de glucagon mais baixos que um indivíduo normal.

Resposta correta = C. Oitenta por cento dos diabéticos tipo 2 são obesos e quase todos apresentam melhora na glicose sanguínea com a redução do peso. Os sintomas geralmente desenvolvem-se gradualmente. Esses pacientes têm níveis de insulina elevados e geralmente não necessitam de insulina (certamente não seis horas após uma refeição). Tipicamente, os níveis de glucagon são normais.

25.4 Um indivíduo com resistência à insulina e função normal das células β :

- A. geralmente apresenta níveis de glicose elevados no jejum.
- B. geralmente apresenta níveis de insulina elevados no jejum.
- C. após algum tempo, se tornará diabético.
- D. raramente é obeso.
- E. é tratado com injeção de insulina.

Resposta correta = B. A resistência à insulina é a capacidade diminuída dos tecidos-alvo, como fígado, tecido adiposo e músculo, de responder adequadamente às concentrações normais de insulina circulante. Obesidade é a causa mais comum de resistência à insulina. A maioria das pessoas obesas e resistentes à insulina não se torna diabética. Na ausência de um defeito na função das células β , indivíduos obesos não diabéticos podem compensar a resistência à insulina com níveis elevados desse hormônio. Os níveis elevados de insulina normalizam os níveis de glicose sanguínea no jejum. Resistência à insulina sem evidências de diabetes não necessita de tratamento farmacológico.

25.5 Explique por que drogas que inibem a atividade de α -glicosidade das sacaríases intestinais ajudam no controle glicêmico em pacientes diabéticos.

Inibidores da α -glicosidade previnem a produção de glicose a partir de produtos da digestão de carboidratos nos quais a glicose está ligada através de uma ligação α -glicosídica, portanto, reduzindo o aumento pós-prandial da glicose sanguínea. Observe que a digestão da lactose não é afetada, pois esse dissacarídeo tem uma ligação β .

Obesidade

26

I. VISÃO GERAL

A obesidade é um distúrbio dos sistemas reguladores do peso corporal e caracteriza-se por armazenamento de excesso de gordura corporal. Nas sociedades primitivas, a vida diária necessitava de um alto grau de atividade física, e o alimento era disponível apenas de forma intermitente; por isso, uma tendência genética favorecendo o armazenamento do excesso de calorias como gordura era uma questão de sobrevivência. Hoje, no entanto, o estilo de vida sedentário e a abundante e ampla variedade de alimento palatável a custos baixos nas sociedades industrializadas têm sem dúvida contribuído para uma epidemia de obesidade. À medida que a obesidade aumenta, também aumenta o risco de desenvolvimento de doenças associadas, como a artrite, o diabetes, a hipertensão, a doença cardiovascular e o câncer. Especialmente alarmante é a explosão de obesidade em crianças e adolescentes, cuja prevalência triplicou nas últimas duas décadas. Nos Estados Unidos, o risco de um indivíduo apresentar sobrepeso ao longo da vida é de aproximadamente 50%, ao passo que o risco para obesidade é de cerca de 25%. A obesidade tem crescido globalmente. De fato, de acordo com algumas estimativas, há no mundo mais indivíduos obesos do que subnutridos.

II. DETERMINAÇÃO DE OBESIDADE

A quantidade de gordura corporal é difícil de ser medida diretamente. Em geral, é determinada por meio de uma medida indireta – o índice de massa corporal (IMC), que demonstrou estar correlacionado com a quantidade de gordura corporal na maior parte dos indivíduos. (Nota: exceções notáveis são os atletas, que possuem grande quantidade de massa muscular magra.) Medida da cintura, utilizando uma fita métrica, também pode ser útil em varreduras de populações para detecção de obesidade, pois essa medida reflete a quantidade de gordura na área abdominal central do corpo. A presença de excesso de gordura central está associada a risco aumentado para morbidade e mortalidade.

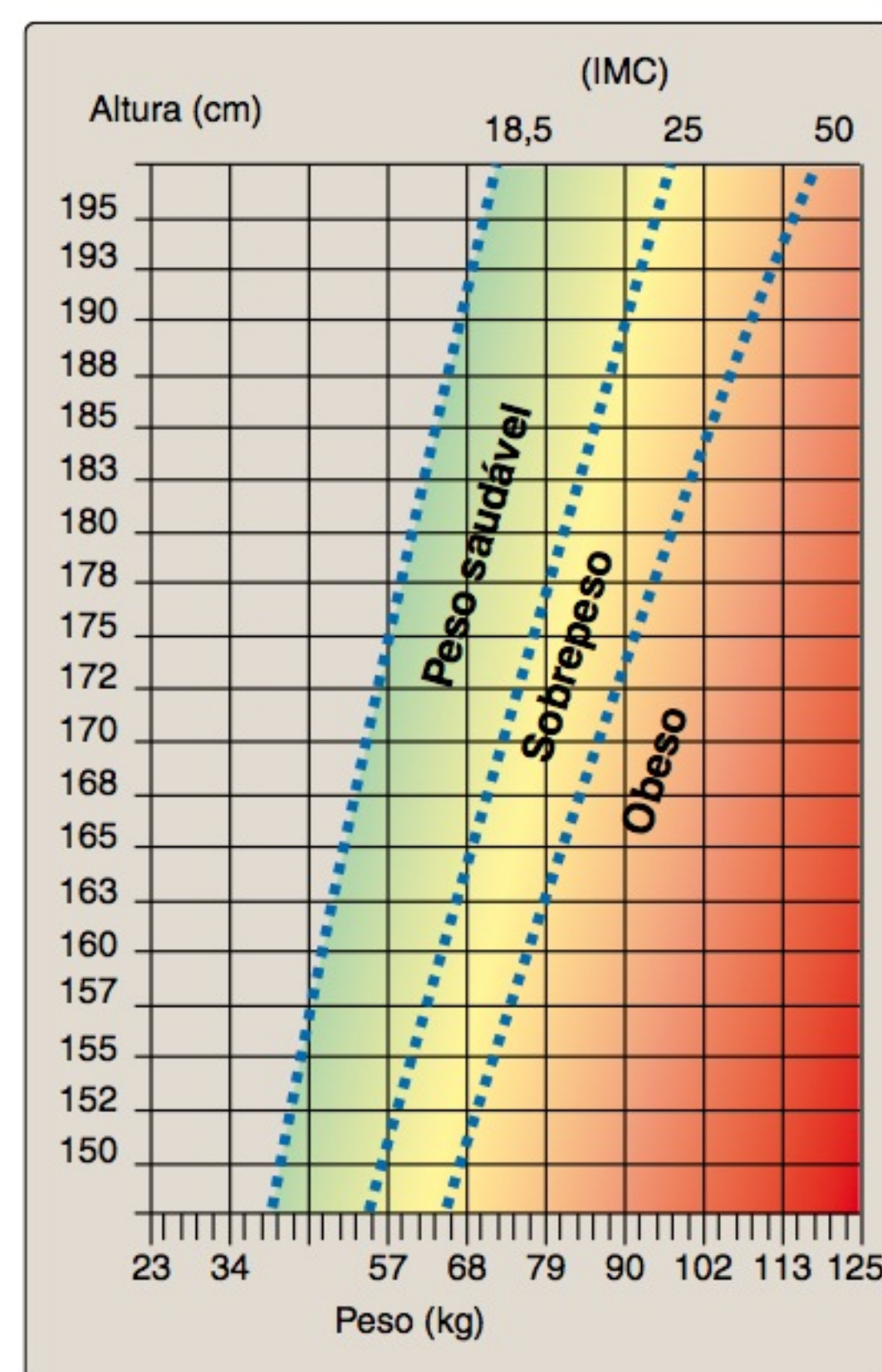


Figura 26.1

Para utilizar o gráfico do IMC, encontre sua altura na coluna à esquerda. Acompanhe a linha até encontrar seu peso. Sua altura e seu peso fazem uma intersecção em seu IMC.

**Figura 26.2**

A. Indivíduos com maior quantidade de gordura abdominal (à esquerda) apresentam maior risco à saúde que indivíduos com gordura na região do quadril (formato de pera, à direita). B. A gordura visceral está localizada dentro da cavidade abdominal, empacotada entre os órgãos internos; a gordura subcutânea é encontrada logo abaixo da pele.

A. Índice de massa corporal

O IMC ($[\text{peso em kg}]/[\text{altura em metros}]^2$) fornece uma medida do peso relativo, ajustado à altura. Isso permite comparações tanto dentro de populações quanto entre populações. Um valor de IMC saudável situa-se entre 19,5 e 24,9. Indivíduos com IMC entre 25 e 29,9 são considerados com sobrepeso; aqueles com IMC igual ou superior a 30 são definidos como obesos e aqueles com IMC acima de 40 são considerados extremamente obesos. Qualquer indivíduo com sobrepeso de mais de 45 kg é considerado gravemente obeso (Figura 26.1). Esses limites são baseados em estudos que examinaram a relação entre IMC e morte prematura e são similares entre homens e mulheres. Quase dois terços dos norte-americanos adultos apresentam sobrepeso e mais de um terço mostra obesidade.

B. Diferenças anatômicas na deposição da gordura

A distribuição anatômica da gordura corporal possui grande influência nos riscos associados à saúde. Uma razão cintura:quadril de mais de 0,8 para mulheres e mais de 1,0 para homens é denominada obesidade androide, em “forma de maçã” ou na região da cintura e está associada a uma maior deposição de gordura no tronco (Figura 26.2A). Em contraste, uma menor razão cintura:quadril reflete preponderância de gordura distribuída ao redor do quadril ou da região das coxas e é denominada obesidade ginecoide, em “forma de pera” ou na região do quadril. É definida por uma razão cintura:quadril menor que 0,8 para mulheres e menor que 1,0 para homens. O formato de pera, mais comumente encontrado em mulheres, apresenta um risco bem menor de doença metabólica e alguns estudos indicam que possa ser relativamente benigno para a saúde. Assim, o clínico pode utilizar índices simples de formato corporal para identificar indivíduos que possam apresentar maior risco para doenças metabólicas associadas à obesidade.

1. **Depósitos subcutâneos e viscerais.** Cerca de 80 a 90% da gordura armazenada no corpo humano localiza-se em depósitos subcutâneos, logo abaixo da pele, nas regiões abdominal e gluteofemoral. Além desses depósitos, 10 a 20% da gordura corporal estão armazenados nos chamados depósitos viscerais (omental e mesentérico), localizados dentro da cavidade abdominal, associados ao trato digestório (Figura 26.2B). Excesso de gordura nos depósitos viscerais (e também de gordura abdominal subcutânea) aumenta os riscos à saúde associados à obesidade.

C. Diferenças bioquímicas nos depósitos localizados de gordura

Os tipos localizados de gordura descritos acima são bioquimicamente diferentes. Especialmente em mulheres, as células adiposas subcutâneas da região gluteofemoral são maiores, mais eficientes para armazenar gordura e tendem a mobilizar ácidos graxos mais lentamente que os adipócitos subcutâneos abdominais. Adipócitos viscerais são mais ativos metabolicamente. Ambos os depósitos, subcutâneo abdominal e visceral, apresentam altas taxas de lipólise em indivíduos obesos e contribuem para aumentar a disponibilidade de ácidos graxos livres. Essas diferenças metabólicas podem contribuir para o maior risco observado em indivíduos com maior adiposidade abdominal.

1. **Função endócrina.** O tecido adiposo, que há certo tempo era considerado um espectador passivo no metabolismo, tem, sabe-se agora, uma participação ativa nos sistemas reguladores do peso corporal. Por exemplo, o adipócito é uma célula endócrina que se-

creta diversos hormônios, como a leptina, que regula o apetite e o metabolismo (veja a p. 353). A adiponectina, uma citocina produzida pelos adipócitos, reduz os níveis de ácidos graxos livres no sangue e tem sido associada a melhora do perfil lipídico e do controle glicêmico e redução da inflamação em pacientes diabéticos.

2. **Importância da circulação porta.** Uma explicação para o fato de os depósitos viscerais de gordura poderem ter uma grande influência sobre desequilíbrios metabólicos relacionados à obesidade é que citocinas secretadas pelo tecido adiposo, assim como ácidos graxos livres liberados da gordura abdominal, entram na veia porta e, assim, têm acesso direto ao fígado. Ácidos graxos e citocinas inflamatórias liberadas do tecido adiposo visceral são captados pelo fígado, o que pode levar à resistência à insulina (veja a p. 342) e ao aumento na síntese de triacilgliceróis, liberados como lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), que contribuem para a hipertrigliceridemia (veja a p. 353). Em contraste, os ácidos graxos livres originários de depósitos subcutâneos de gordura entram na circulação geral, de modo que podem ser oxidados pelo músculo, alcançando o fígado em menor concentração.

D. Tamanho e número de células adiposas

Quando os triacilgliceróis são depositados nos adipócitos, essas células podem expandir para um tamanho duas a três vezes maior que o inicial (Figura 26.3). A capacidade de expansão de uma célula adiposa, no entanto, é limitada. Em uma situação de superalimentação prolongada, pré-adipócitos presentes no tecido adiposo são estimulados a proliferar e diferenciar em células adiposas maduras, aumentando o número de adipócitos. Assim, a maioria dos casos de obesidade deve-se a uma combinação de aumento no tamanho das células adiposas (hipertrofia) e do seu número (hiperplasia). Como outros tecidos, o tecido adiposo sofre contínua remodelação. Contrariamente ao dogma inicial, sabemos agora que os adipócitos podem morrer, mas não está determinada a velocidade em que esse processo ocorre; alguns estudos estimam que o tempo de vida médio para um adipócito seja de 10 anos.

Indivíduos obesos podem ter até cinco vezes o número normal de células adiposas. Se o excesso de calorias não pode ser acomodado no tecido adiposo, o excesso de ácidos graxos “vaza” para outros tecidos, como músculo e fígado. A quantidade dessa “gordura ectópica” está fortemente associada à resistência à insulina. Quando um indivíduo obeso perde peso, o tamanho dos adipócitos é reduzido, mas seu número geralmente não é afetado. Assim, uma quantidade normal de gordura corporal será atingida pela redução do tamanho dos adipócitos, que tornar-se-ão menores que o normal. Adipócitos pequenos são muito eficientes para acumular novamente gordura, e isso pode estimular o apetite e novo ganho de peso.

III. REGULAÇÃO DO PESO CORPORAL

O peso corporal da maioria dos indivíduos tende a ser relativamente estável ao longo do tempo. Essa observação levou à teoria de que cada indivíduo tem um “ponto fixo”, biologicamente predeterminado, para seu peso corporal. O corpo tenta adicionar tecido adiposo quando seu peso cai abaixo desse ponto fixo e tenta perder peso quando o peso corporal está acima desse ponto fixo. Por exemplo, com a perda de peso, o apetite aumenta e o gasto de energia diminui, ao passo que uma ingestão maior de alimento leva à diminuição no apetite e a um leve aumento no gasto energético (Figura 26.4). Um modelo de ponto fixo estrito, no entanto, não explica por que alguns indivíduos falham em voltar ao peso inicial após um período de maior ingestão, nem a razão da

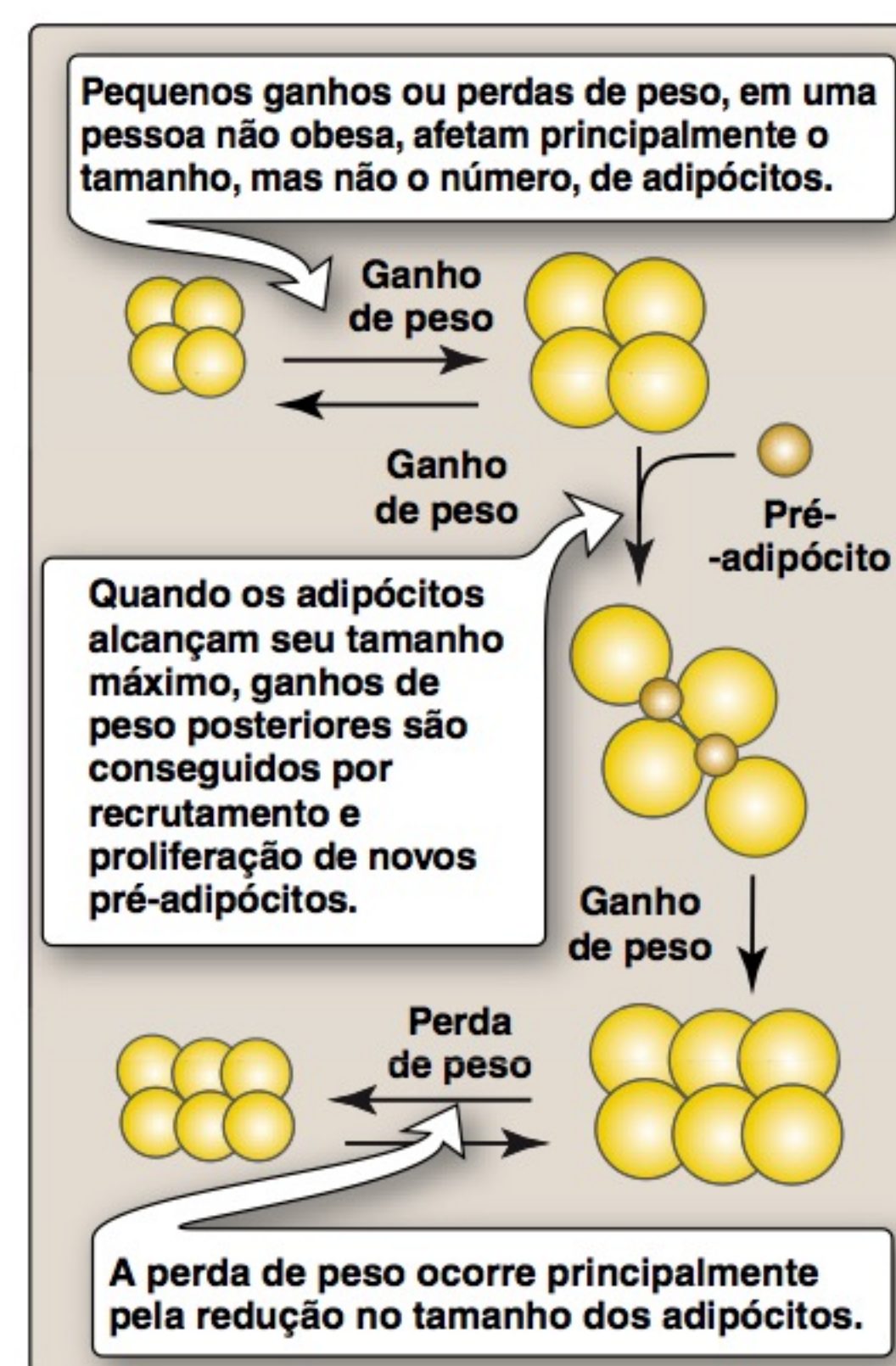


Figura 26.3

Alterações hipertróficas e hiperplásticas, as quais acredita-se ocorrerem na obesidade grave.

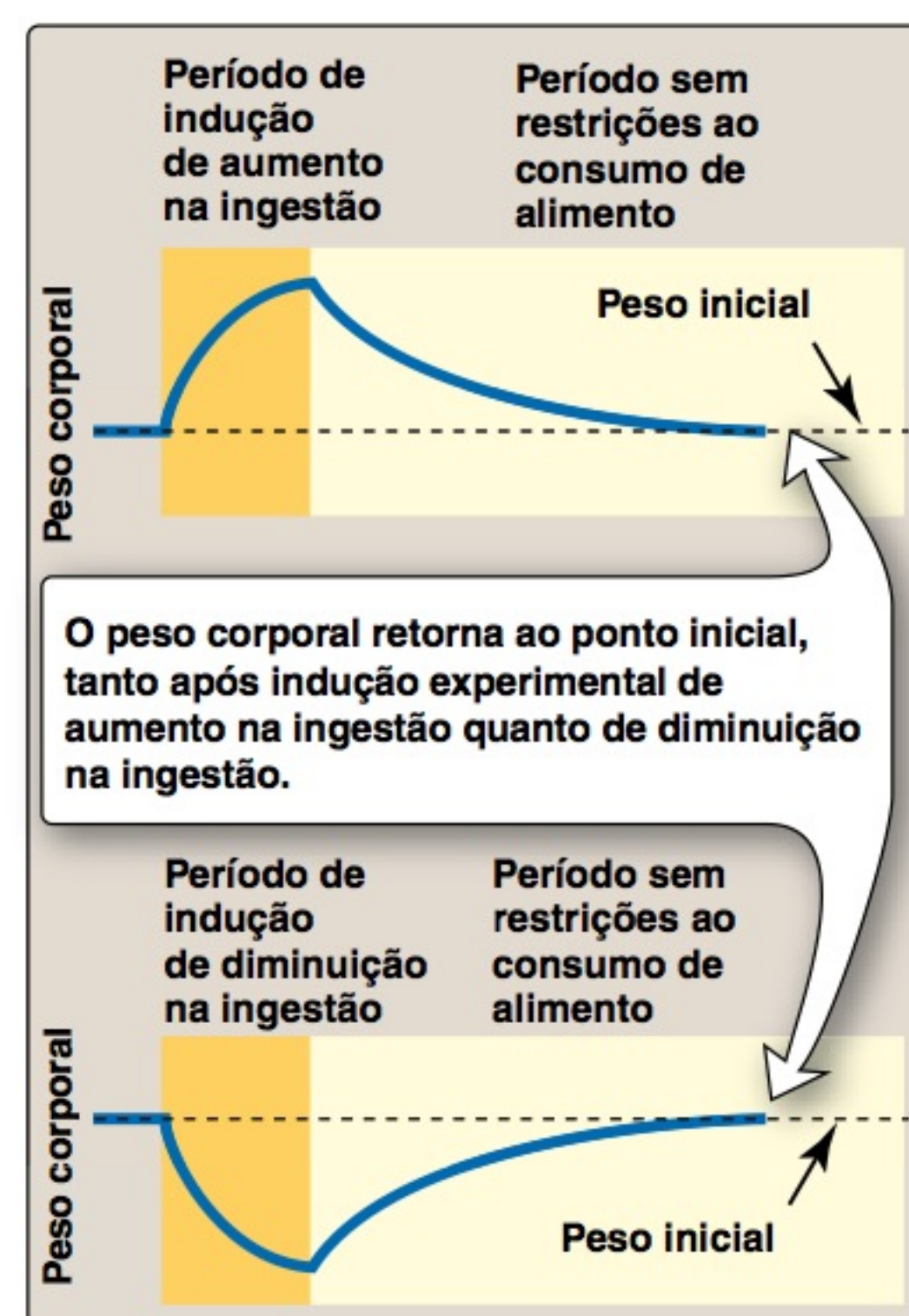


Figura 26.4

Alterações de peso após episódios de indução de aumento ou diminuição na ingestão, seguindo-se períodos de livre acesso ao alimento.

**Figura 26.5**

Gêmeos idênticos, com peso somado de cerca de 590 kg. Observe a semelhança na forma corporal.

**Figura 26.6**

A. Paciente com deficiência de leptina com a idade de 5 anos, antes do início da terapia. B. Paciente com nove anos de idade, após 48 meses de terapia com injeção subcutânea de leptina recombinante.

atual epidemia de obesidade. Aparentemente, fatores do ambiente (disponibilidade de alimento e exercício) influenciam um “ponto ajustado”, que é preservado. O peso corporal, em vez de estar irreversivelmente determinado, parece flutuar ao redor de um “ponto ajustado”, que reflete um balanço entre fatores ambientais, que influenciam a ingestão de alimento e o gasto energético, e fatores biológicos, que controlam o peso corporal.

A. Contribuições genéticas à obesidade

Hoje é evidente que mecanismos genéticos desempenham papel importante na determinação do peso corporal. A importância da genética como determinante da obesidade é indicada pela observação de que crianças adotadas frequentemente apresentam peso corporal que se correlaciona com seus pais biológicos e não com os pais adotivos. Além disso, gêmeos idênticos possuem IMC muito semelhante (Figura 26.5), sejam criados juntos ou separados, e seus IMC são mais semelhantes entre si do que aqueles de gêmeos dizigóticos não idênticos.

1. **Mutações.** Mutações raras em um único gene podem causar obesidade em humanos. Mutações no gene do hormônio leptina, produzido pelo tecido adiposo, ou em seu receptor produzem hiperfagia (aumento do apetite e do consumo de alimento) e marcante obesidade (Figura 26.6), enfatizando a importância do sistema da leptina na regulação do peso corporal humano (seção IV). A maioria dos humanos obesos apresenta níveis elevados de leptina, mas parece ser resistente aos efeitos reguladores do apetite desse hormônio.

B. Contribuições ambientais e comportamentais

A epidemia de obesidade que está ocorrendo ao longo da última década não pode ser explicada por alterações em fatores genéticos, que são estáveis em uma escala de tempo tão curta. É evidente que fatores ambientais, como a fácil disponibilidade de alimentos saborosos e ricos em energia, desempenham um papel no aumento da prevalência de obesidade. Além disso, estilos de vida sedentários, encorajados pelo uso de televisão, automóveis, computadores e aparelhos capazes de diminuir o gasto energético em tarefas no trabalho e em casa, diminuem a atividade física e aumentam a tendência a ganhar peso. Os comportamentos alimentares, como consumo de lanches, tamanho das porções, variedade de alimentos consumidos, preferências alimentares individuais e o número de pessoas com quem o indivíduo faz as refeições também influenciam o consumo de alimento. É importante observar, no entanto, que, nesse mesmo ambiente, muitos indivíduos não se tornam obesos. A suscetibilidade à obesidade parece ser explicada, ao menos em parte, por uma interação entre os genes do indivíduo e seu ambiente, e pode ser influenciada por fatores adicionais, como a subnutrição ou a supernutrição maternas, que podem “ajustar” os sistemas reguladores do organismo para manter um nível maior ou menor de gordura corporal.

IV. MOLÉCULAS QUE INFLUENCIAM A OBESIDADE

A causa da obesidade pode ser resumida em uma afirmativa de simplicidade enganadora, da primeira lei da termodinâmica: a obesidade resulta de uma ingestão de energia que supera o gasto energético. No entanto, deslindar o mecanismo subjacente a esse desequilíbrio envolve o conhecimento de interações complexas de fatores bioquímicos, neurológicos, ambientais e psicológicos. As vias neurais e humorais básicas que regulam o apetite, o gasto energético e o peso corporal envolvem sistemas que regulam a ingestão de alimento a curto prazo (refeição a refeição) e sinais para a regulação a longo prazo (dia a dia, semana a semana, ano a ano) do peso corporal (Figura 26.7).

A. Sinais de regulação a longo prazo

1. **Leptina.** A leptina é um hormônio produzido pelo adipócito e secretado em proporção ao tamanho das reservas de gordura. Quando consumimos menos calorias do que precisamos, a gordura do organismo diminui, assim como a produção de leptina pelos adipócitos. O organismo se adapta, minimizando a utilização de energia (redução da atividade) e aumentando o apetite, fechando a alça de retroalimentação que regula o peso corporal. Infelizmente, em muitos indivíduos, o sistema da leptina pode ser mais eficiente na prevenção da perda de peso do que na prevenção do ganho de peso. Embora uma refeição ou consumo de alimento em excesso aumente a leptina e isso devesse, em teoria, diminuir o apetite e impedir um grande consumo de calorias, outros fatores que estimulam o apetite podem, aparentemente, sobrepor-se ao sistema da leptina em muitos indivíduos.
2. **Insulina.** Indivíduos obesos são também hiperinsulinêmicos. Assim como a leptina, a insulina atua em neurônios hipotalâmicos, diminuindo o apetite.

B. Sinais de regulação a curto prazo

Sinais de regulação a curto prazo, produzidos no trato gastrointestinal, controlam a fome e a saciedade, afetando o tamanho e o número de refeições ao longo de um curso temporal de minutos a horas. Na ausência de ingestão (entre as refeições), o estômago produz grelina, um hormônio orexigênico (estimulador do apetite), que induz fome. Durante uma refeição, à medida que o alimento é consumido, hormônios do intestino, incluindo a colecistocinina (CCK) e o peptídeo YY (PYY), entre outros, podem atuar como sinais de saciedade por meio de ações sobre o esvaziamento gástrico e de sinais neurais ao hipotálamo, e a refeição é encerrada. No hipotálamo, neuropeptídeos, como o NPY e o hormônio estimulador de α -melanócitos (α -MSH), e neurotransmissores, como serotonina e dopamina, são importantes reguladores da fome e da saciedade. Sinais a curto e longo prazo interagem: a leptina pode afetar a sensibilidade de neurônios hipotalâmicos a sinais de curto prazo, como a CCK. Desse modo, existem muitas e complexas alças de regulação, que controlam o tamanho e o número de refeições em relação ao estado dos depósitos de gordura do organismo.

V. ALTERAÇÕES METABÓLICAS OBSERVADAS NA OBESIDADE

Os efeitos predominantes da obesidade incluem dislipidemias, intolerância à glicose (hiperglicemia abaixo daquela classificada como diabetes, veja a p. 338) e resistência à insulina, expressa principalmente no fígado, no músculo e no tecido adiposo. Essas anormalidades metabólicas refletem sinais moleculares que se originam da massa aumentada de adipócitos.

A. Síndrome metabólica

A obesidade abdominal está associada a um grupo de anormalidades metabólicas que tem sido chamado de síndrome metabólica, e inclui intolerância à glicose, resistência à insulina, hiperinsulinemia, dislipidemia (baixo nível de lipoproteínas de alta densidade [HDL] e aumento do nível de triacilgliceróis) e hipertensão (Figura 26.8). A síndrome metabólica também está associada a um estado de inflamação sistêmica crônica, que contribui para a patogênese da resistência à insulina e para a aterosclerose. Na obesidade, níveis baixos do hormônio adiponectina podem contribuir para a síndrome metabólica e, assim, para o risco de diabetes tipo 2 e de doença cardíaca, pois esse

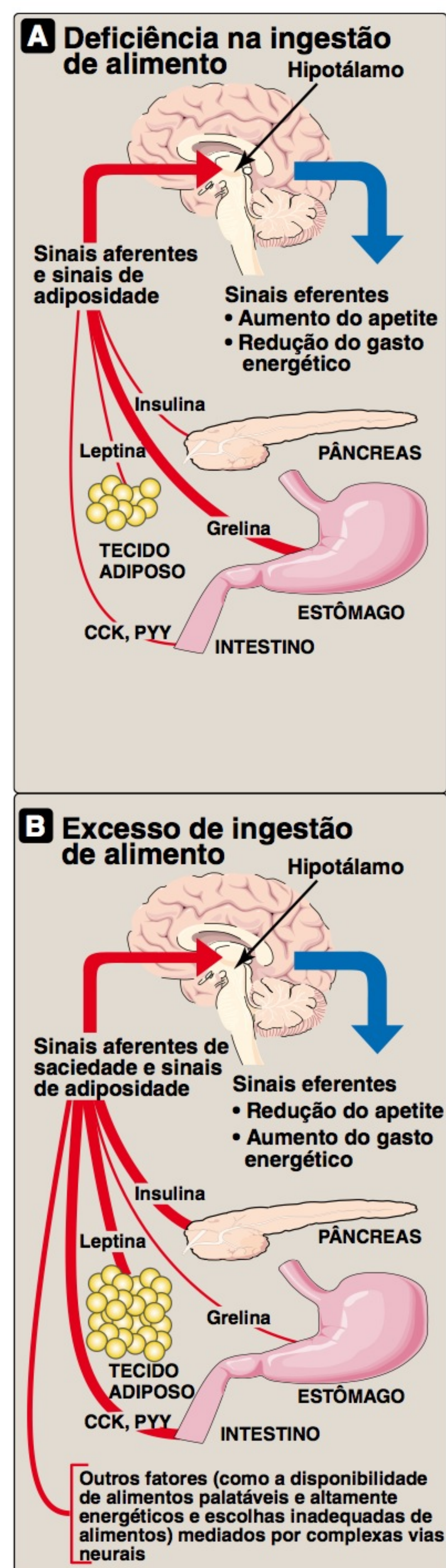


Figura 26.7

Alguns sinais que influenciam o apetite e a saciedade. CCK = colecistocinina, PYY = peptídeo YY.

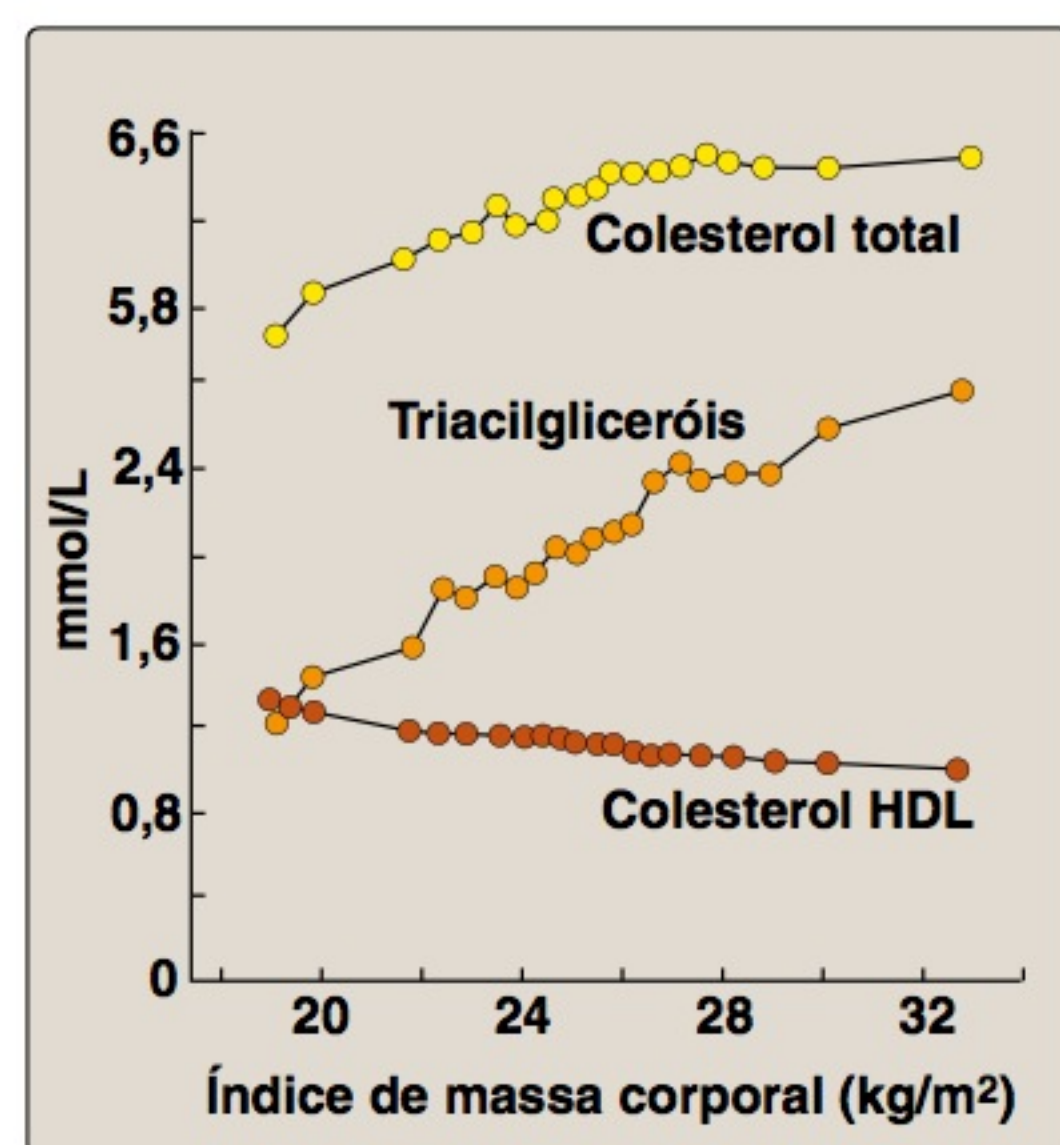


Figura 26.8

Índice de massa corporal e alterações nos lipídeos no sangue.

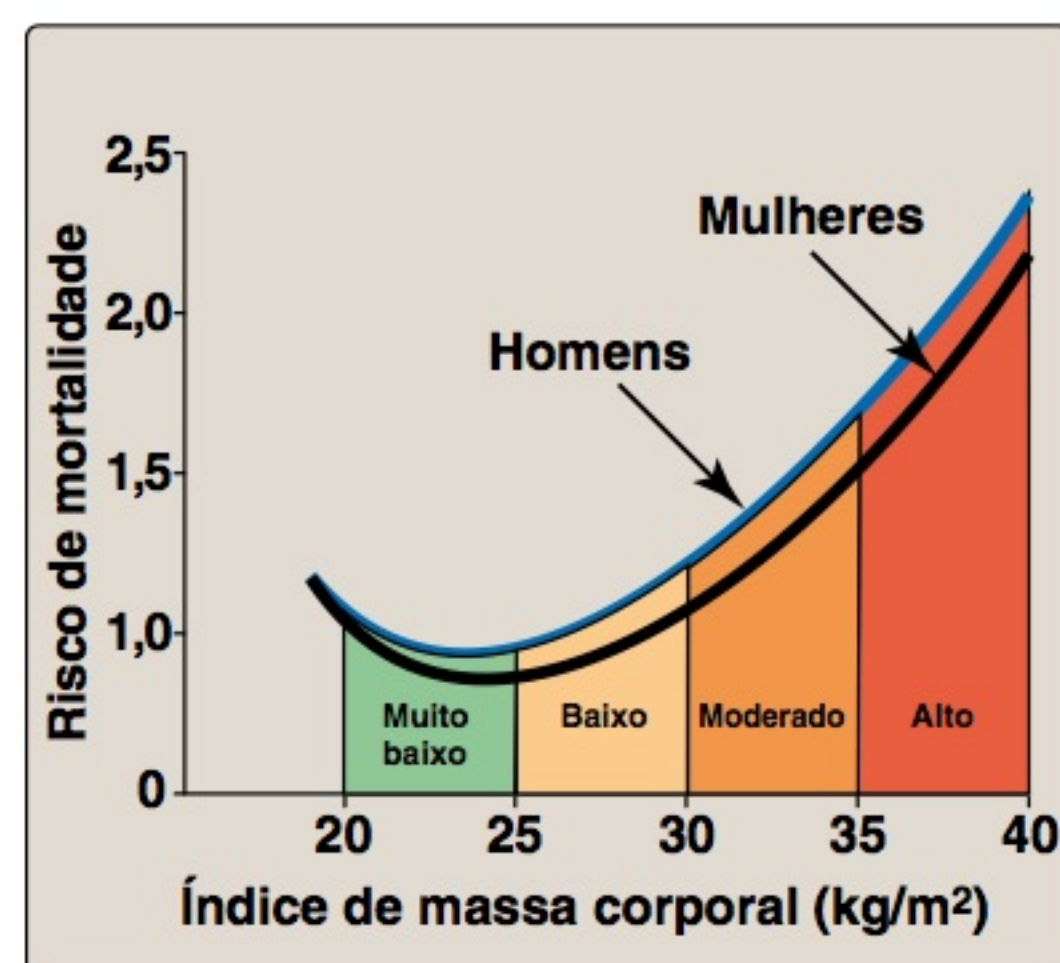


Figura 26.9

Índice de massa corporal e risco relativo de mortalidade.

hormônio, produzido no tecido adiposo, normalmente freia a inflamação e aumenta a sensibilidade dos tecidos, especialmente do fígado, à insulina.

VI. OBESIDADE E SAÚDE

A obesidade correlaciona-se a um risco aumentado de mortalidade (Figura 26.9). É um fator de risco para diversas condições crônicas, incluindo o desencadeamento de diabetes tipo 2, alterações nos lipídeos plasmáticos, hipertensão, doença cardíaca, alguns tipos de câncer, cálculos biliares, artrite, gota e apneia do sono. A relação entre a obesidade e as morbidades associadas é mais forte entre indivíduos com menos de 55 anos. Após a idade de 74 anos, não mais existe associação entre o IMC aumentado e a mortalidade. A perda de peso em indivíduos obesos leva à diminuição da pressão sanguínea, dos triacilgliceróis séricos e da glicemia. Os níveis de HDL aumentam.

VII. REDUÇÃO DO PESO CORPORAL

A diminuição do peso corporal pode ajudar a reduzir as complicações da obesidade, incluindo diabetes e hipertensão. Para conseguir uma redução de peso, o paciente obeso deve diminuir a ingestão energética ou aumentar o gasto de energia; acredita-se, no entanto, que a redução da ingestão calórica contribua mais eficientemente para a perda de peso. Tipicamente, uma prescrição para redução do peso combina alterações na dieta com aumento da atividade física e modificações comportamentais, as quais podem incluir educação nutricional e planejamento das refeições, registrando e monitorando a ingestão de alimento por meio de diários alimentares, com modificações de fatores que levem ao consumo excessivo e reaprendizado de dicas de saciedade. Uma vez que o objetivo de se perder peso seja alcançado, a manutenção do peso corporal é um processo separado, que requer vigilância, pois a maioria dos pacientes volta a ganhar peso após terem cessado os esforços para perdê-lo.

A. Atividade física

O aumento na atividade física pode criar um déficit energético. Embora a adição de exercício físico a um regime hipocalórico inicialmente não produza uma maior perda de peso, o exercício é um componente essencial em programas direcionados à manutenção da redução do peso. Além disso, a atividade física melhora as condições cardiorrespiratórias e reduz o risco de doença cardiovascular, independente da perda de peso. Pessoas que combinam restrição calórica e exercício com tratamento comportamental podem esperar a perda de 5 a 10% do peso corporal pré-intervenção em um período de quatro a seis meses. Estudos mostram que indivíduos que mantêm seu programa de exercícios após uma perda de peso inicial ganham menos peso em relação aos que não mantêm um programa desse tipo.

B. Restrição calórica

A dieta é a abordagem mais comumente utilizada para o controle do peso. Uma vez que um quilograma de tecido adiposo corresponde a aproximadamente 7.700 kcal, pode-se estimar o efeito da restrição calórica sobre a redução do tecido adiposo. A perda de peso nas dietas com restrição calórica é determinada principalmente pela ingestão de energia e não pela composição dos nutrientes. Para muitos indivíduos, a restrição calórica não é efetiva a longo prazo. Mais de 90% das pessoas que tentam perder peso ganham novamente o peso perdido quando a intervenção na dieta é suspensa. Todavia, é importante reconhecer que, embora poucos indivíduos venham a alcançar seu peso ideal com tratamento, perdas de 10% do peso corporal ao longo de um período de seis meses frequentemente

reduzem a pressão sanguínea e os níveis de lipídeos e aumentam o controle sobre o diabetes tipo 2. Assim, os benefícios para a saúde de perdas de peso relativamente pequenas devem ser enfatizados para o paciente.

C. Tratamento farmacológico

Diversas medicações destinadas a reduzir o peso estão atualmente aprovadas pela agência governamental dos Estados Unidos que regulamenta a comercialização e a utilização de alimentos e medicamentos (FDA, de *Food and Drug Administration*) para uso em adultos com IMC igual ou superior a 30.¹ Esses fármacos tendem a apresentar efeitos modestos sobre a redução de peso, e é comum o peso ser recuperado após o término da terapia.

D. Tratamento cirúrgico

Procedimentos cirúrgicos, como a colocação de banda gástrica ou outras cirurgias de restrição, são eficientes para redução do peso em indivíduos gravemente obesos. Por mecanismos ainda não esclarecidos, essas cirurgias também melhoram o controle da glicemia em indivíduos diabéticos.



¹Veja o Capítulo 29 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão mais detalhada sobre fármacos utilizados no tratamento da obesidade.

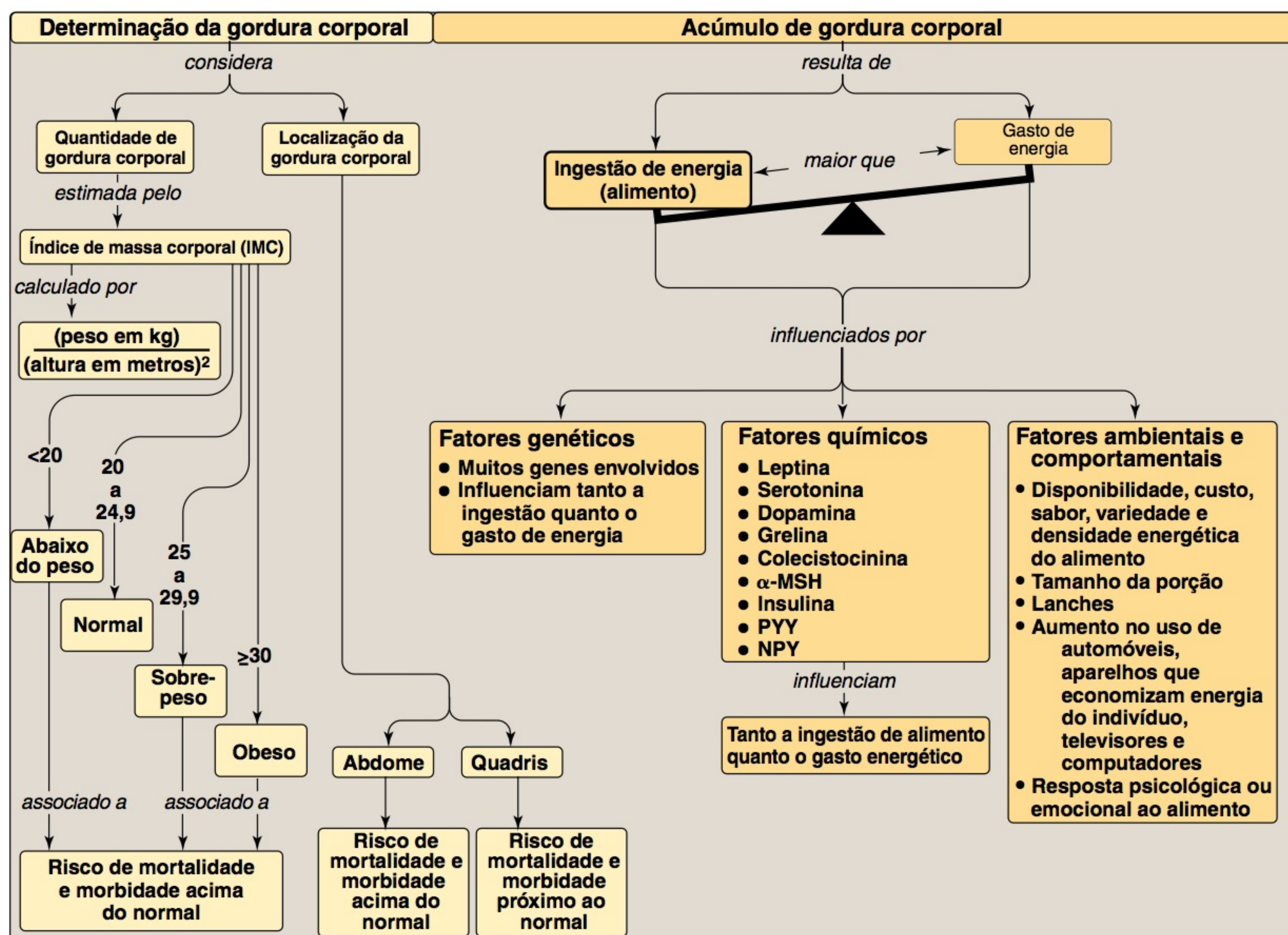


Figura 26.10

Mapa de conceitos-chave para obesidade.

VIII. RESUMO DO CAPÍTULO

A **obesidade** – acúmulo de excesso de gordura corporal – ocorre quando a ingestão de energia excede o gasto energético. A obesidade está aumentando em países industrializados devido à redução no gasto energético diário e ao aumento na ingestão de energia, resultante da maior disponibilidade de alimentos saborosos e de baixo custo. O **índice de massa corporal (IMC)** é uma medida de fácil determinação e altamente correlacionada à gordura corporal. Quase dois terços dos norte-americanos adultos apresentam **sobrepeso** ($\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) e mais de 30% são **obesos** ($\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$). A distribuição anatômica da gordura corporal apresenta grande influência nos riscos associados à saúde. O excesso de gordura localizada na área **abdominal central** do corpo está associado a maior risco de hipertensão, resistência à insulina, diabetes, dislipidemia e doença cardíaca coronariana. O peso de um indivíduo é determinado por fatores genéticos e ambientais. O **apetite** é influenciado por **sinais aferentes** (ou de entrada) – sinais neurais, hormônios circulantes, metabólitos – que são integrados pelo **hipotálamo**. Esses diversos sinais determinam a liberação de peptídeos hipotalâmicos e ativam sinais neurais eferentes. A **obesidade** está relacionada ao **aumento no risco de mortalidade** e é um fator de risco para diversas condições crônicas. A **redução do peso** é alcançada com um balanço energético negativo, ou seja, pela **diminuição da ingestão calórica**. Praticamente todas as dietas que limitam determinados grupos de alimentos ou macronutrientes levam à perda de peso em curto prazo. A manutenção a longo prazo da redução do peso é difícil de ser obtida. Reduções modestas na ingestão de alimento podem ser alcançadas com **tratamentos farmacológicos**. **Procedimentos cirúrgicos** idealizados para reduzir o consumo de alimento são uma opção para pacientes gravemente obesos que não tenham respondido a outros tratamentos.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 26.1 Uma mulher de 40 anos de idade, 155 cm de altura e pesando 85,5 kg consulta você acerca de como perder peso. As medidas de cintura e quadril da paciente são 104 e 99 cm, respectivamente. O exame físico e os dados laboratoriais estão todos dentro do normal. O único filho, de 14 anos, a irmã e os pais da paciente apresentam sobrepeso. A paciente lembra ter sido obesa durante toda a infância e adolescência. Ao longo dos últimos 15 anos, ela tentou sete diferentes dietas, por períodos de duas semanas a três meses, perdendo entre 2,5 e 11 kg. Com a interrupção de cada dieta, ela ganhava novamente o peso perdido, voltando a pesar entre 83 e 86 kg. Qual das seguintes alternativas melhor descreve esta paciente?
- Ela pode ser classificada como tendo sobrepeso.
 - Ela apresenta padrão de distribuição de gordura do tipo “maçã” (androide).
 - Ela possui aproximadamente o mesmo número de adipócitos que um indivíduo com peso normal, mas seus adipócitos são maiores.
 - Seus níveis de leptina circulante estão provavelmente abaixo do normal.
 - Seus níveis de triacilgliceróis circulantes estão provavelmente abaixo do normal.

- 26.2 Calcule o IMC para a paciente apresentada na questão 26.1.

Resposta correta = B. A razão entre as medidas da cintura e do quadril é $104/99 = 1,05$. O formato de maçã é definido como uma razão entre cintura e quadril de mais de 0,8 para mulheres, e mais de 1,0 para homens. Ela tem, portanto, um padrão de distribuição de gordura em forma de maçã, mais comumente observado em homens. Em comparação com outras mulheres com mesmo peso corporal, que apresentam um padrão de distribuição de gordura ginecoide, a presença de um aumento no tecido adiposo intra-abdominal ou visceral leva essa paciente a apresentar risco aumentado para diabetes, hipertensão, dislipidemia e doença cardíaca coronariana. O IMC calculado indica que a paciente é classificada como obesa. Indivíduos com acentuada obesidade e histórico de obesidade desde o início da infância apresentam depósitos de gordura constituídos de muitos adipócitos, todos carregados com triacilgliceróis. A leptina plasmática em humanos obesos em geral encontra-se normal para sua massa de gordura, sugerindo que a resistência à leptina, e não a sua deficiência, possa ocorrer na obesidade humana. Os ácidos graxos circulantes, caracteristicamente aumentados na obesidade, são transportados ao fígado e convertidos em triacilgliceróis e colesterol. O excesso de triacilgliceróis e colesterol é liberado como VLDL, resultando no aumento dos triacilgliceróis séricos.

$$\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 (\text{m}^2) = 85,5 / (1,55)^2 = 35,6 \text{ kg/m}^2.$$

Nutrição

27

I. VISÃO GERAL

Os nutrientes são os constituintes dos alimentos necessários para sustentar as funções normais do organismo. Toda a energia é fornecida por três classes de nutrientes: gorduras, carboidratos e proteínas – e, em algumas dietas, etanol (Figura 27.1). A ingestão dessas moléculas ricas em energia é maior que a ingestão dos demais nutrientes da dieta. Assim, eles são chamados de macronutrientes. Este capítulo se concentra nos tipos e nas quantidades de macronutrientes necessários para manter uma boa saúde e prevenir doenças crônicas em adultos. Os nutrientes necessários em menor quantidade, como as vitaminas e os minerais, são denominados micronutrientes e são considerados no Capítulo 28.

II. INGESTÃO DIETÉTICA DE REFERÊNCIA

Comitês de especialistas norte-americanos e canadenses, organizados pelo Conselho de Alimentação e Nutrição da Academia Nacional de Ciências, compilaram as Ingestões Dietéticas de Referência (IDR) – que estimam as quantidades de nutrientes necessárias para prevenir as deficiências, além de manter uma boa saúde e um crescimento adequado. As IDR substituem e expandem as Quantidades Diárias Recomendadas (QDR, ou RDA, de *Recommended Dietary Allowances*), publicadas com revisões periódicas desde 1941. Diferentemente das QDR, as IDR estabelecem limites máximos para o consumo de alguns nutrientes e incorporam o papel dos nutrientes na saúde ao longo de toda a vida, indo além das doenças por deficiências. Tanto a IDR quanto a QDR se referem à ingestão média diária de nutrientes a longo prazo, pois não é necessário consumir toda a cota recomendada diariamente.

A. Definição de IDR

A IDR consiste em quatro padrões dietéticos de referência para ingestão de nutrientes, designados para grupos específicos, de acordo com a idade, o estado fisiológico e o sexo (Figura 27.2).

1. **Necessidade média estimada (NME).** A NME representa a média diária do nível de ingestão de nutrientes estimada para satisfazer

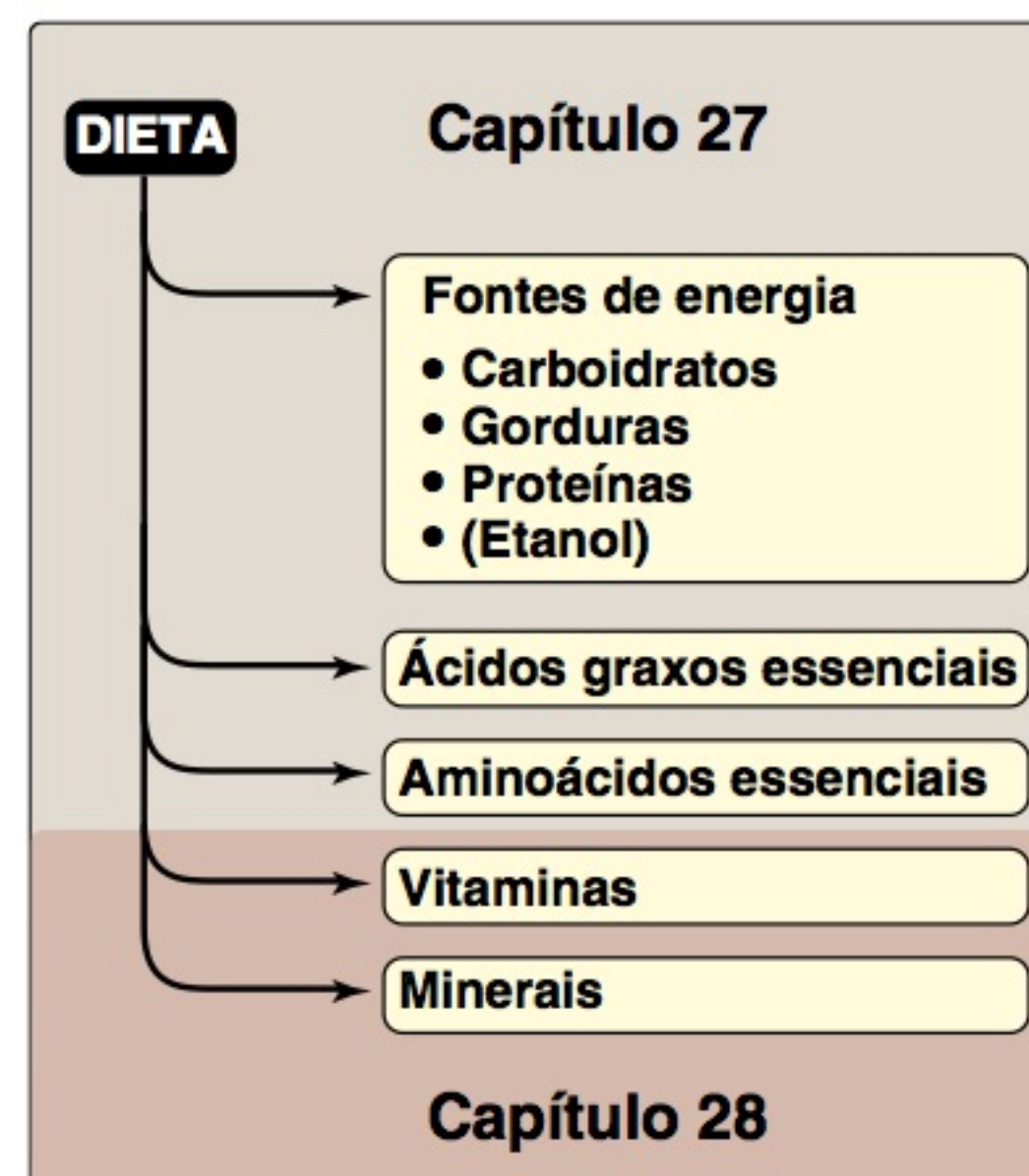


Figura 27.1

Nutrientes essenciais obtidos da dieta. (Nota: o etanol não é considerado um componente essencial da dieta, mas pode fornecer uma contribuição significativa para a ingestão calórica diária em alguns indivíduos.)

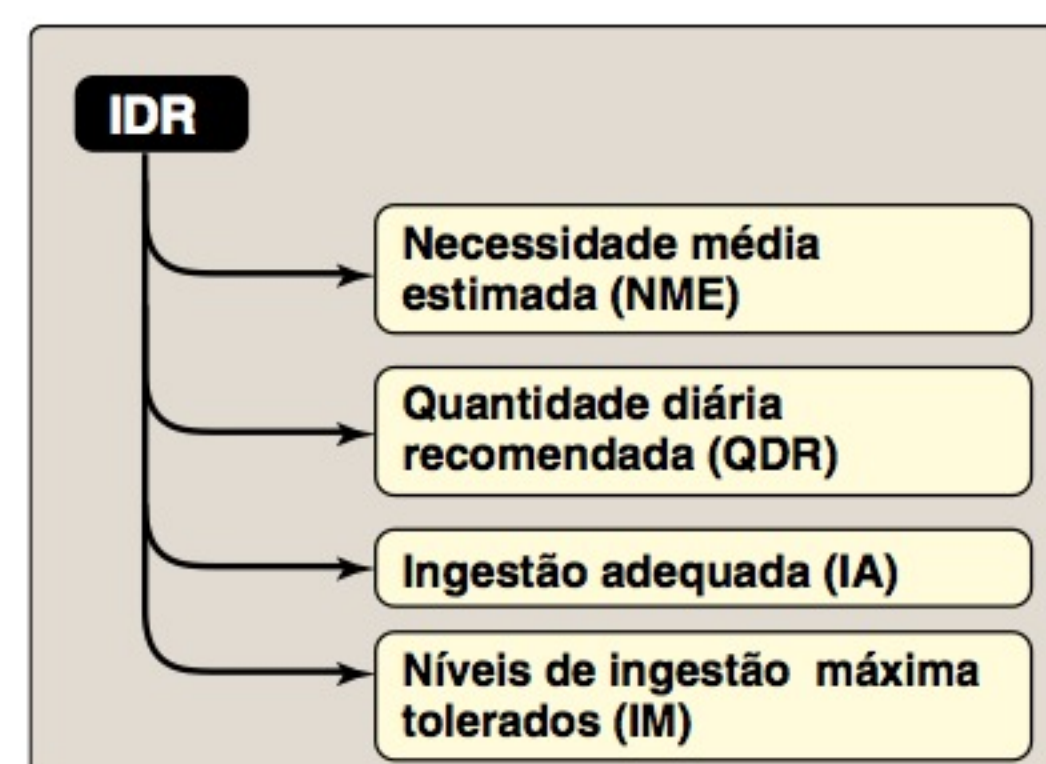


Figura 27.2

Componentes da Ingestão Dietética de Referência (IDR).

NUTRIENTE	NME, QDR ou IA	IM
Tiamina	NME, QDR	—
Riboflavina	NME, QDR	—
Niacina	NME, QDR	IM
Vitamina B ₆	NME, QDR	IM
Folato	NME, QDR	IM
Vitamina B ₁₂	NME, QDR	—
Ácido pantotênico	IA	—
Biotina	IA	—
Colina	IA	IM
Vitamina C	NME, QDR	IM
Vitamina A	NME, QDR	IM
Vitamina D	IA	IM
Vitamina E	NME, QDR	IM
Vitamina K	IA	—
Boro	—	IM
Cálcio	IA	IM
Cromo	IA	—
Cobre	NME, QDR	IM
Fluoreto	IA	IM
Iodeto	NME, QDR	IM
Ferro	NME, QDR	IM
Magnésio	NME, QDR	IM
Manganês	IA	IM
Molibdênio	NME, QDR	IM
Níquel	—	IM
Fósforo	NME, QDR	IM
Selênio	NME, QDR	IM
Vanádio	—	IM
Zinco	NME, QDR	IM

Figura 27.3

Ingestão Dietética de Referência para vitaminas e minerais, em indivíduos com um ano ou mais. NME = necessidade média estimada; QDR = quantidade diária recomendada; IA = ingestão adequada; IM = níveis de ingestão máxima tolerados; — = sem valor estabelecido.

as necessidades de metade dos indivíduos saudáveis de determinado gênero e estágio da vida. É útil para estimar as reais necessidades em grupos e em indivíduos.

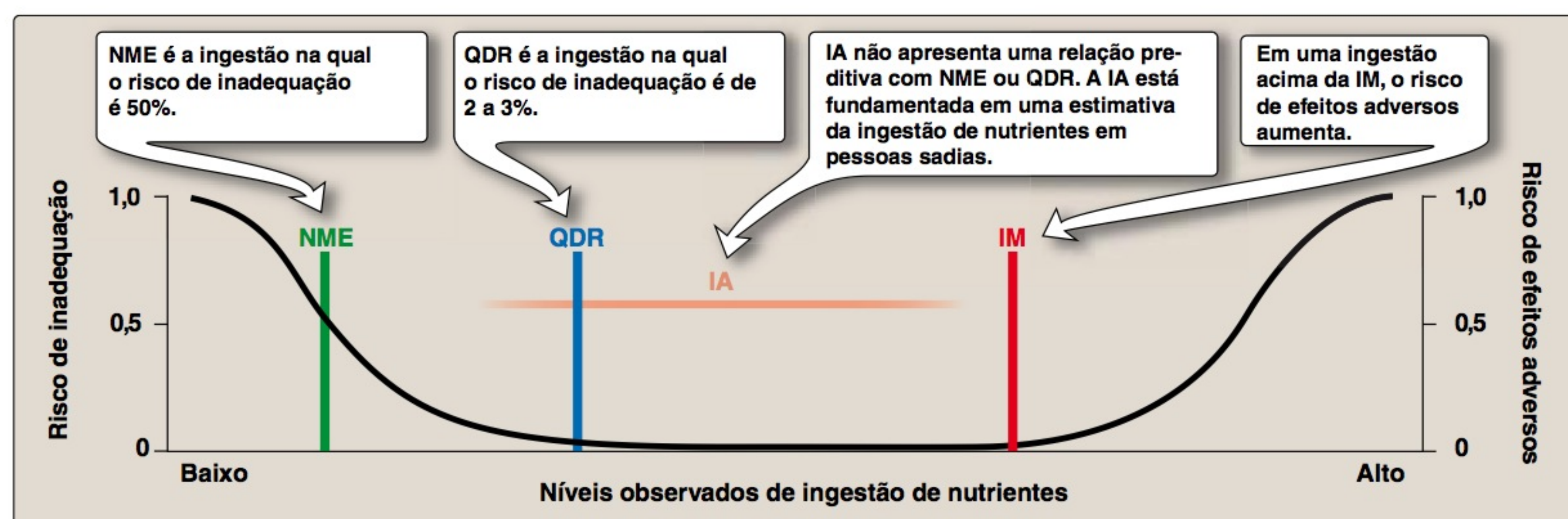
- Quantidade diária recomendada (QDR).** A QDR é a média diária do nível de ingestão suficiente para satisfazer as necessidades da quase totalidade (97 a 98%) dos indivíduos em um estágio da vida e gênero. A QDR não é o mínimo necessário para indivíduos saudáveis; em vez disso, é intencionalmente ajustada para dar margem de segurança para a maioria dos indivíduos. A NME serve de base para o estabelecimento da QDR. Se o desvio padrão (DP) da NME está disponível, e as necessidades para o nutriente apresentam distribuição normal, a QDR é estabelecida em dois desvios padrão acima da NME, isto é, $QDR = NME + 2 DP_{NME}$.
- Ingestão adequada (IA).** A IA é estabelecida, no lugar da QDR, na falta de evidências científicas suficientes para calcular a NME ou a QDR. A IA baseia-se em estimativas da ingestão de nutrientes por um grupo (ou grupos) de pessoas aparentemente saudáveis, que se presume estarem adequadas. Por exemplo, a IA para bebês, para quem o leite humano é a única fonte de alimento recomendada nos primeiros quatro a seis meses de vida, fundamenta-se na estimativa da ingestão média diária de nutrientes fornecidos pelo leite humano para bebês saudáveis, a termo, alimentados exclusivamente com leite materno.
- Níveis de ingestão máxima tolerados (IM, ou UL, de *upper level*).** A IM é a média máxima de ingestão diária de nutrientes que provavelmente não impõe risco de efeitos adversos à saúde para a quase totalidade dos indivíduos na população em geral. À medida que a ingestão aumenta acima da IM, o risco potencial de efeitos adversos pode aumentar. Não se pretende que a IM seja um nível de ingestão recomendável. Ela é útil devido ao aumento na disponibilidade de alimentos fortificados e ao aumento na utilização de suplementos dietéticos. A IM aplica-se ao uso crônico diário. Para alguns nutrientes, podem não existir dados suficientes para se estabelecer uma IM.

B. Usando a IDR

A maioria dos nutrientes tem um padrão de IDR (Figura 27.3). Geralmente, um nutriente tem sua NME com a QDR correspondente. A maioria delas é estabelecida de acordo com a idade e o gênero, e pode ser influenciada por fatores especiais, como a gestação e a lactação nas mulheres. Quando os dados são insuficientes para se estimar a NME (ou QDR), então calcula-se a IA, a qual é estabelecida por especialistas para preencher as necessidades de todos os indivíduos saudáveis em um grupo, mas é fundamentada em menos dados que os utilizados para o estabelecimento da NME ou da QDR. A ingestão abaixo da NME necessita ser melhorada, porque a probabilidade de adequação é de 50% ou menos (Figura 27.4). A ingestão entre a NME e a QDR provavelmente necessita ser melhorada, porque a probabilidade de adequação é menor do que 98%, e a ingestão no nível ou acima da QDR pode ser considerada adequada. A ingestão acima da IA pode ser considerada adequada. A ingestão entre a IM e a QDR pode ser considerada sem risco de efeitos adversos.

III. NECESSIDADES ENERGÉTICAS EM HUMANOS

O aporte de energia estimado é a ingestão média de nutrientes energéticos prevista para manter o balanço energético (i. e., quando as calorias consumidas são iguais à energia gasta) em um adulto sadio, em determinados gê-


Figura 27.4

Comparação dos componentes da Ingestão Dietética de Referência. NME = necessidade média estimada; QDR = quantidade diária recomendada; IA = ingestão adequada; IM = níveis de ingestão máxima.

nero, idade e altura, e cujo peso e nível de atividade física são consistentes com uma boa saúde. Diferenças na genética, na constituição corporal, no metabolismo e no comportamento das pessoas tornam difícil prever com exatidão as necessidades calóricas de um indivíduo. Entretanto, algumas aproximações simples podem nos dar estimativas úteis: por exemplo, adultos sedentários necessitam de cerca de 30 kcal/kg/dia para manter seu peso corporal; adultos moderadamente ativos necessitam 35 kcal/kg/dia; e adultos muito ativos requerem 40 kcal/kg/dia. (Nota: a média das necessidades diárias de energia, utilizada em rótulos de alimentos, é 2.000 ou 2.500 kcal/dia.)

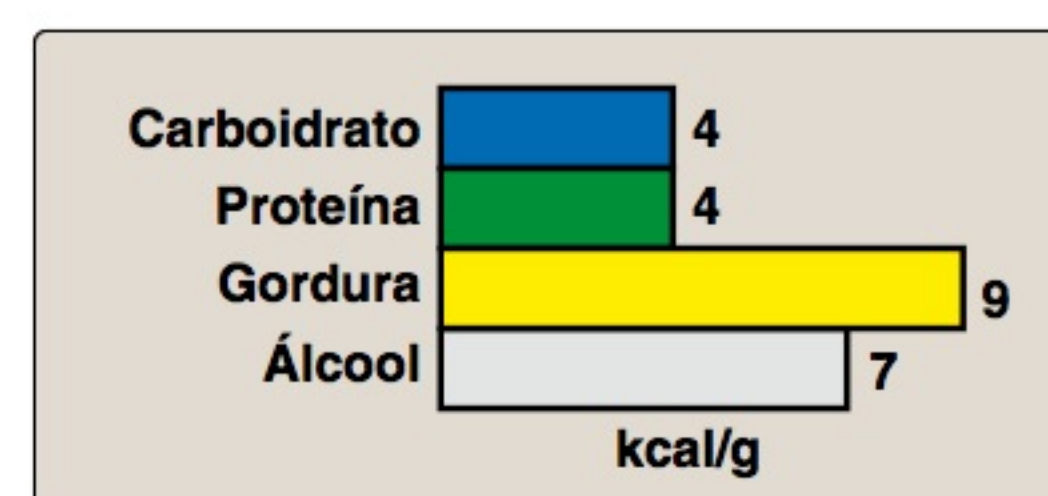
A. Conteúdo energético dos alimentos

O conteúdo energético dos alimentos é calculado a partir do calor liberado pela combustão total do alimento em um calorímetro. Ele é expresso em quilocalorias (kcal ou Cal). Os fatores de conversão padrão para determinar o valor calórico metabólico de gordura, proteína e carboidratos são mostrados na Figura 27.5. Observe que o conteúdo energético da gordura é mais do que duas vezes superior ao dos carboidratos ou das proteínas, ao passo que o conteúdo de energia do etanol é intermediário entre gorduras e carboidratos. (Nota: o Joule é uma unidade de energia amplamente utilizada em vários países. Para uniformidade, muitos cientistas adotam o uso de Joules [J] em vez de calorias. Uma cal = 4,2 J; 1 Cal [1 kcal, 1 caloria alimentar] = 4,2 kJ. Entretanto, a unidade kcal ainda predomina e é utilizada neste texto.)

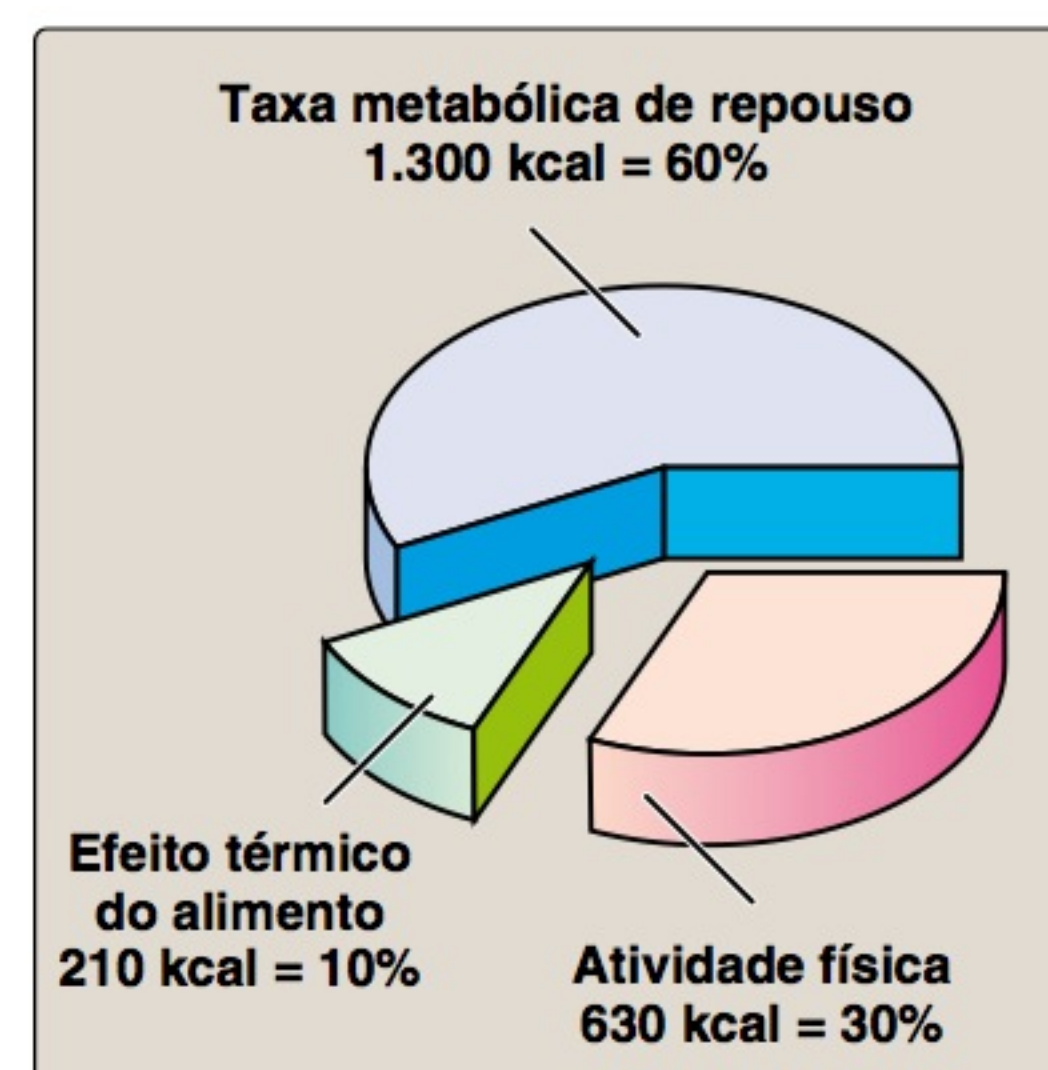
B. Como a energia é utilizada no organismo

A energia gerada pelo metabolismo dos macronutrientes é utilizada para três processos dependentes de energia que ocorrem no organismo: taxa metabólica de repouso, efeito térmico do alimento (anteriormente chamado de ação dinâmica específica) e atividade física.

- 1. Taxa metabólica de repouso.** A energia gasta por um indivíduo em repouso, no estado pós-absortivo, é chamada de taxa metabólica de repouso (TMR; anteriormente, taxa metabólica basal). Ela representa a energia necessária para manter as funções normais do organismo, como respiração, fluxo sanguíneo, transporte iônico e manutenção da integridade celular. Em um adulto, a TMR é cerca de 1.800 kcal para homens (70 kg) e 1.300 kcal para mulheres (50 kg). Cerca de 50 a 70% do gasto energético diário em indivíduos sedentários é atribuído à TMR (Figura 27.6).


Figura 27.5

Energia média disponível a partir dos principais componentes dos alimentos.


Figura 27.6

Gasto energético total estimado em uma mulher de 20 anos, 165 cm de altura, pesando 50 kg e que faz atividade física leve.

MACRONUTRIENTE	VARIAÇÃO (porcentagem de energia)
Gordura	20–35
Ácidos graxos poli-insaturados ω -6	5–10
Ácidos graxos poli-insaturados ω -3	0,6–1,2*
(Cerca de 10% do total de gordura pode vir de ácidos graxos de cadeias mais longas, ácidos graxos ω -3 ou ω -6)	
Carboidrato	45–65
● Não menos que 130 g/dia	
(Não mais que 25% do total de calorias deve vir de açúcares adicionados.)	
Fibras	
● Homens: 38 g	
● Mulheres: 25 g	
Proteína	10–35

Figura 27.7

Variação aceitável da distribuição dos macronutrientes em adultos. *Fortes evidências sugerem que altos níveis de ácidos graxos poli-insaturados ω -3 fornecem proteção contra doença cardíaca coronariana.

- Efeito térmico do alimento.** Durante a digestão e a absorção dos alimentos, a produção de calor pelo corpo aumenta em até 30% acima do nível de repouso. Esse efeito é chamado de efeito térmico do alimento ou termogênese induzida pela dieta. Em um período de 24 horas, a resposta térmica à ingestão de alimentos pode perfazer 5 a 10% do gasto energético total.
- Atividade física.** A atividade muscular fornece a maior variação no gasto energético. A quantidade de energia consumida depende da duração e da intensidade do exercício. O gasto diário de energia pode ser estimado, registrando-se cuidadosamente o tipo e a duração de todas as atividades. Geralmente, uma pessoa sedentária requer de 30 a 50% acima das necessidades calóricas no repouso para o balanço energético (veja a Figura 27.6), ao passo que um indivíduo muito ativo pode necessitar 100% ou mais calorias acima da TMR.

IV. INTERVALO ACEITÁVEL PARA A DISTRIBUIÇÃO DOS MACRONUTRIENTES

O Intervalo Aceitável para a Distribuição dos Macronutrientes (IADM) é definido como a variação de ingestão de um determinado macronutriente associado a risco reduzido de doença crônica, enquanto fornece quantidades adequadas de nutrientes essenciais. Os IADM para adultos são de 45 a 65% do total de calorias para carboidratos, 20 a 35% para gorduras e 10 a 35% para proteínas (Figura 27.7). Observe que existe um intervalo para a ingestão aceitável de macronutrientes. As propriedades biológicas das gorduras, dos carboidratos e das proteínas da dieta são descritas a seguir.

V. GORDURAS DA DIETA

A incidência de várias doenças crônicas é significativamente influenciada pelos tipos e pelas quantidades de nutrientes consumidos (Figura 27.8). As gorduras da dieta influenciam fortemente a incidência de doença cardíaca coronariana (DCC); evidências ligando a gordura da dieta ao risco de câncer ou de obesidade são bem mais fracas.



No passado, as recomendações dietéticas enfatizavam a diminuição da quantidade total de gordura e de colesterol na dieta. Pesquisas recentes indicam que o tipo de gordura é mais importante do que a quantidade total de gordura consumida.

A. Lipídeos plasmáticos e DCC

O colesterol plasmático pode originar-se da dieta ou da biossíntese endógena. Em ambos os casos, o colesterol é transportado entre os tecidos combinado com proteínas e fosfolipídeos, formando as lipoproteínas.

- Lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL).** O nível plasmático de colesterol não é regulado precisamente, mas sim varia em resposta à dieta. Níveis elevados resultam em aumento do risco de doenças cardiovasculares (Figura 27.9). O risco aumenta progressivamente com valores altos para o colesterol sérico total. Uma correlação mais forte existe entre os níveis sanguíneos de colesterol LDL e doença cardíaca (veja a p. 232). Em contraste, altos níveis de colesterol HDL têm sido associados a diminuição no risco de doença cardíaca. Níveis anormais de lipídeos no plasma

(dislipidemias), juntamente com o fumo, a obesidade, o sedentarismo, a resistência à insulina e outros fatores de risco, agem no sentido de aumentar o risco de DCC. Um nível plasmático elevado de triacilgliceróis também é um fator de risco para DCC, porém a associação é mais fraca do que entre os níveis de colesterol LDL e DCC.

- Efeitos benéficos da diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol.** Ensaios clínicos têm demonstrado que o tratamento dietético ou medicamentoso da hipercolesterolemia é efetivo em diminuir a LDL, aumentar a HDL e reduzir o risco de eventos cardiovasculares. As mudanças induzidas pela dieta nas concentrações plasmáticas de lipoproteínas são modestas, com alterações tipicamente entre 10 e 20%, ao passo que o tratamento com “estatinas”¹ diminui o colesterol plasmático em cerca de 30 a 60% (veja a p. 224).

B. Gorduras da dieta e lipídeos plasmáticos

Os triacilgliceróis são, quantitativamente, a classe mais importante de gorduras da dieta. A influência dos triacilgliceróis nos níveis de lipídeos plasmáticos é determinada pela natureza química de seus ácidos graxos constituintes. A presença ou a ausência e o número de ligações duplas (ácidos graxos saturados *versus* mono e poli-insaturados), a localização dessas ligações duplas (ω -6 *versus* ω -3) e a configuração cis ou trans dos ácidos graxos insaturados são as características estruturais mais importantes que influenciam os lipídeos plasmáticos.

- Gorduras saturadas.** Os triacilgliceróis compostos principalmente por ácidos graxos cujas cadeias hidrocarbonadas não apresentam qualquer ligação dupla são chamados de gorduras saturadas. O consumo de gorduras saturadas está positivamente associado a níveis plasmáticos altos de colesterol total e colesterol LDL e a aumento no risco de DCC. As principais fontes de ácidos graxos saturados são laticínios, carne e alguns óleos vegetais, como de coco e de palmeira (importantes fontes de gordura na América Latina e na Ásia, mas não nos Estados Unidos, Figura 27.10). A maioria dos especialistas aconselha uma limitação na ingestão de gorduras saturadas.

Ácidos graxos saturados com cadeias contendo 14 (ácido mirístico) ou 16 (ácido palmítico) carbonos são os mais potentes em aumentar o colesterol sérico. O ácido esteárico (18 carbonos – encontrado em muitos alimentos, incluindo o chocolate) tem pouco efeito no colesterol sérico.

- Gorduras monoinsaturadas.** Os triacilgliceróis contendo principalmente ácidos graxos cujas cadeias apresentam uma ligação dupla são chamados de gorduras monoinsaturadas. Ácidos graxos insaturados são geralmente obtidos de vegetais e peixes. Ao substituírem os ácidos graxos saturados na dieta, as gorduras monoinsaturadas diminuem tanto os níveis plasmáticos de colesterol total quanto os de colesterol LDL, mas mantêm ou aumentam o colesterol HDL. Essa capacidade das gorduras monoinsaturadas de modificar favoravelmente os níveis de lipoproteínas pode explicar, em parte, a observação de que as culturas mediterrâneas, cujas dietas são ricas em óleo de oliva (rico em ácido oleico, monoinsaturado), apresentam baixa incidência de DCC.



¹Veja o Capítulo 21 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão mais detalhada sobre fármacos anti-hiperlipidêmicos.



Figura 27.8

Influência da nutrição em algumas causas comuns de morte nos Estados Unidos no ano de 2000. Em vermelho, causas de morte em que a dieta tem um papel significativo. Azul indica causas de morte em que o excesso de álcool tem um papel importante. *A dieta tem influência somente em alguns casos de câncer.

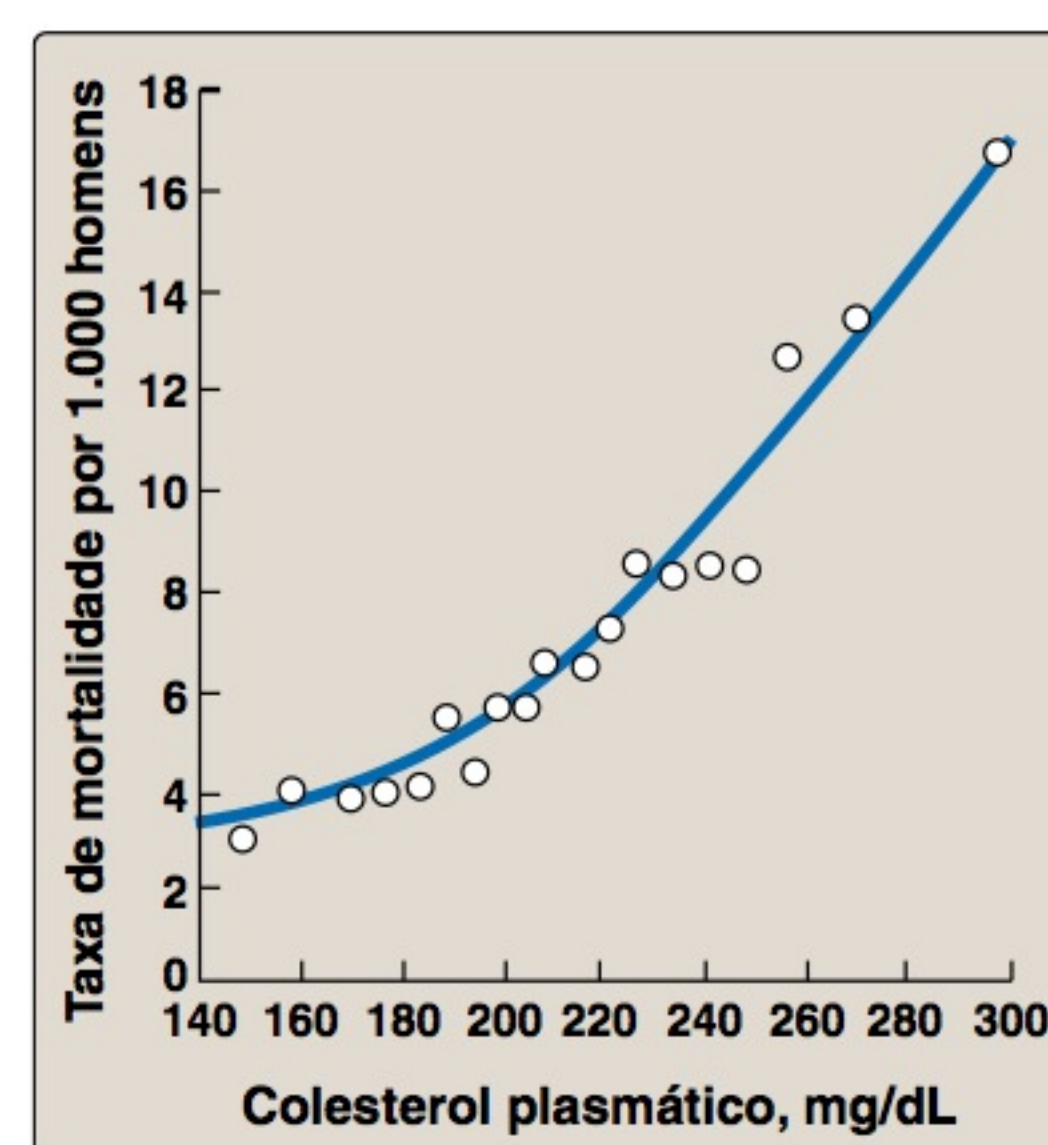


Figura 27.9

Correlação da taxa de mortalidade por doença coronariana com a concentração plasmática de colesterol. (Nota: os dados foram obtidos a partir de um estudo de seis anos com a taxa de mortalidade de homens ajustada para a idade.)

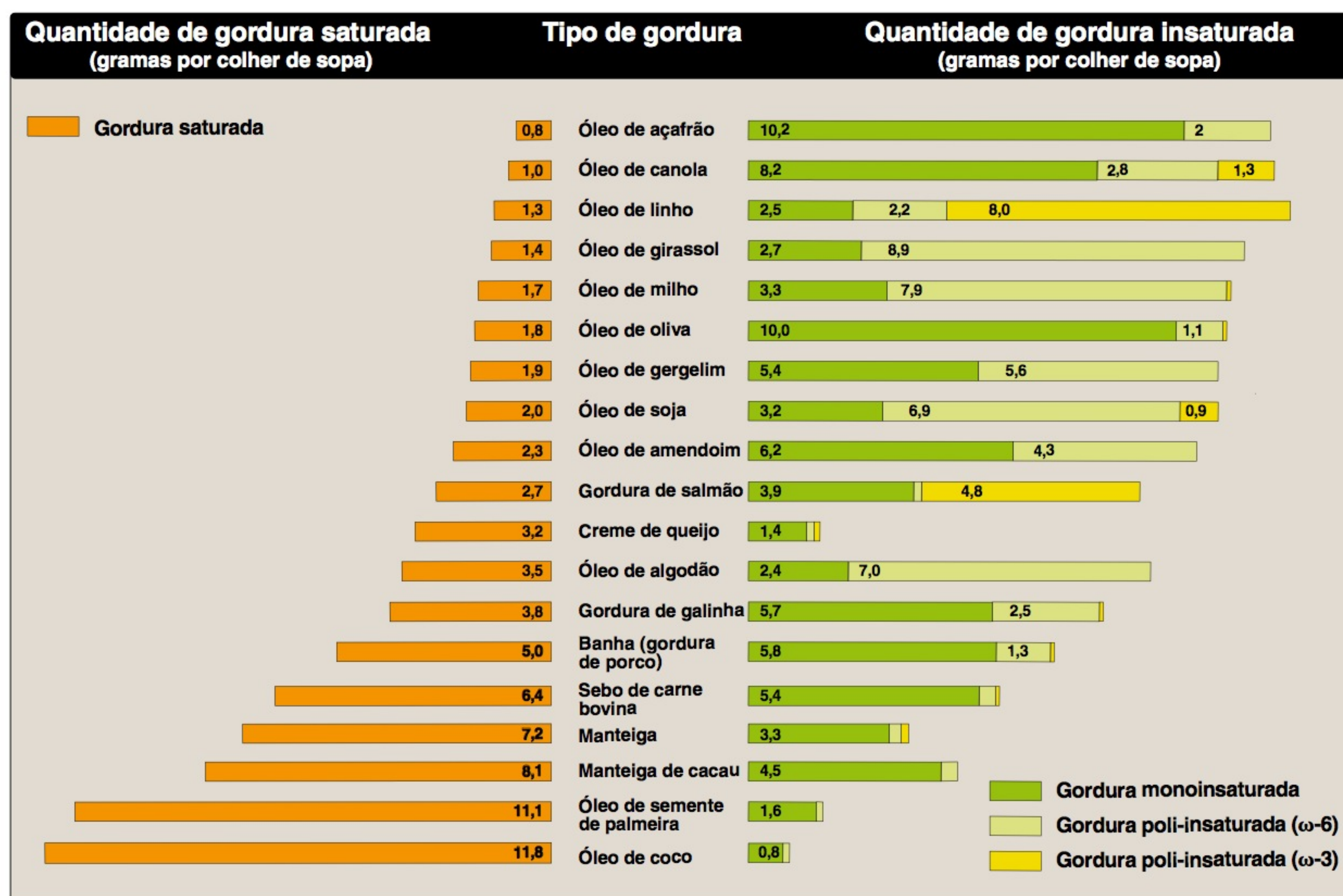


Figura 27.10

Composições de lipídeos comumente encontrados na dieta.

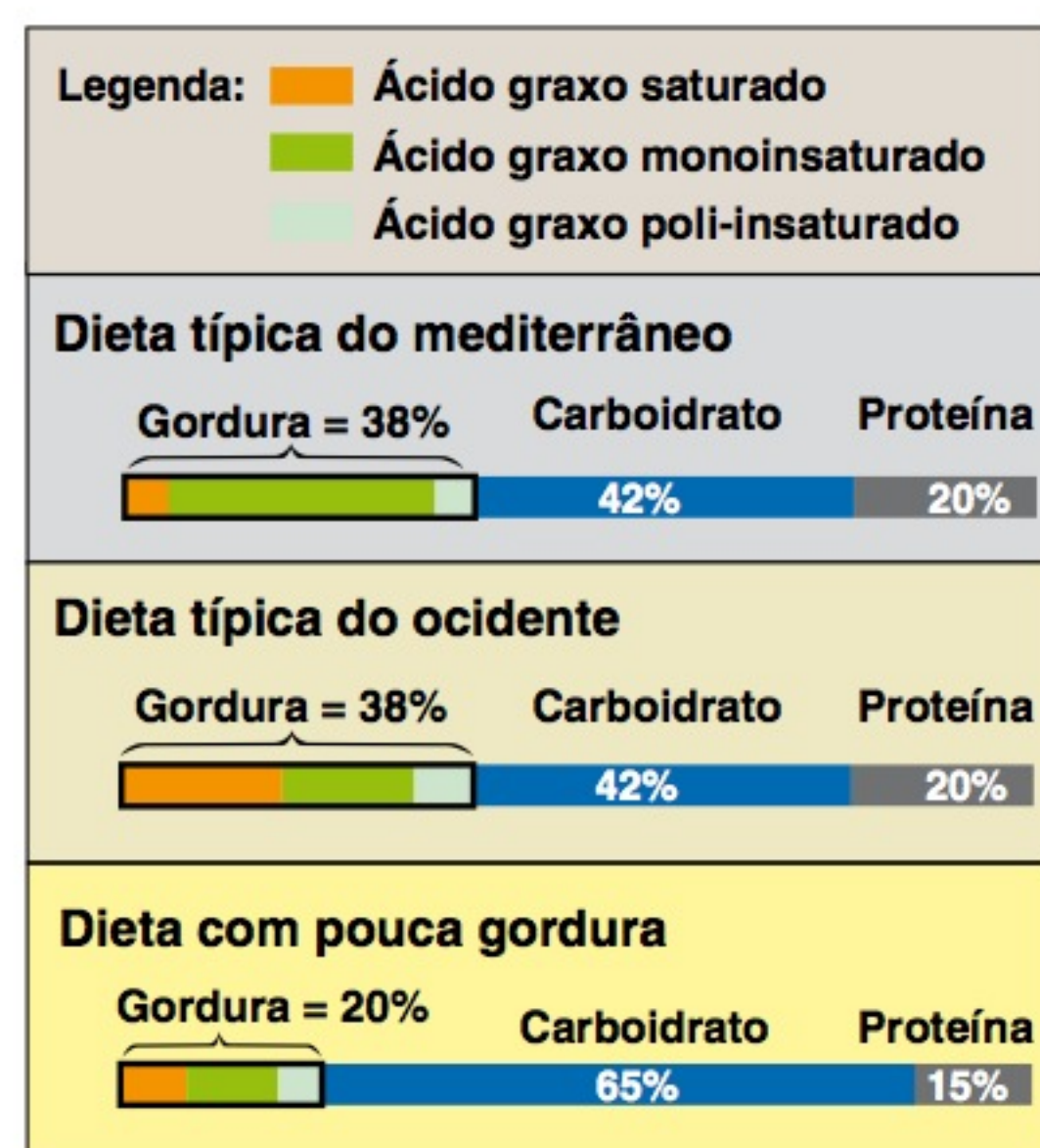


Figura 27.11

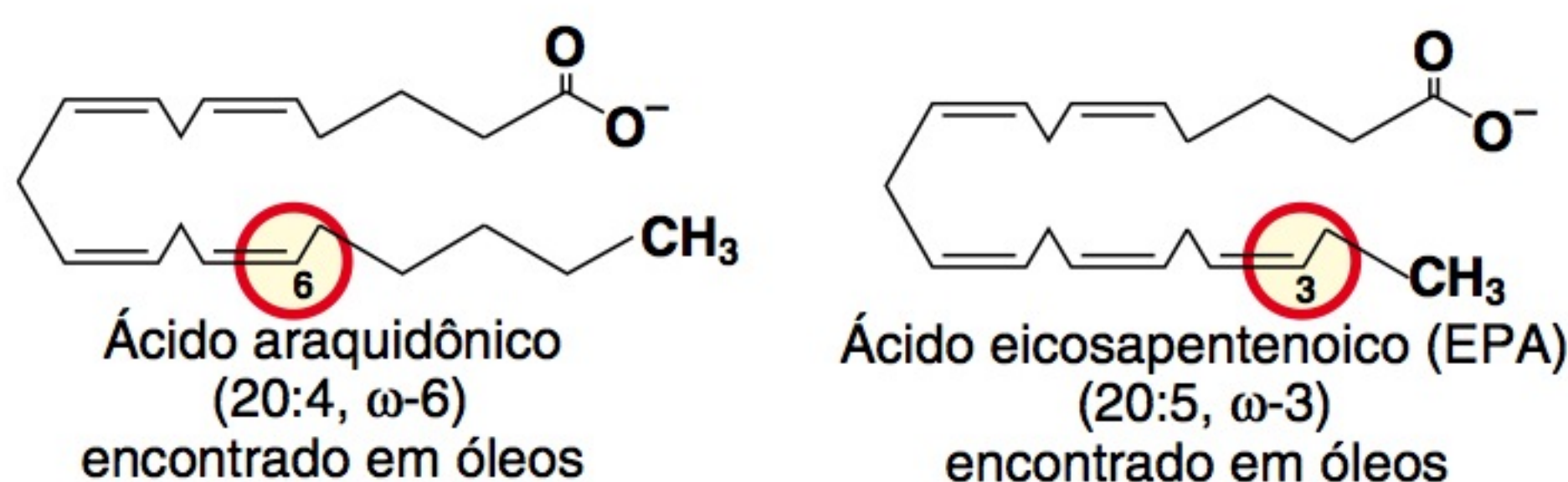
Composição das dietas típicas do Mediterrâneo e do Ocidente e de dieta com pouca gordura.

a. **A dieta do Mediterrâneo.** A dieta do Mediterrâneo é um exemplo de dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados (MUFA, de *monounsaturated fatty acids*; no caso, do óleo de oliva) e de ácidos graxos ω-3 (de óleo de peixes e algumas nozes), mas pobre em gordura saturada. Por exemplo, a Figura 27.11 mostra a composição da dieta mediterrânea em comparação à dieta “ocidental”, similar à consumida nos Estados Unidos, e com uma dieta tipicamente pobre em gordura. A dieta mediterrânea contém alimentos frescos da estação, abundância de plantas e pouca quantidade de carne vermelha, sendo o óleo de oliva a principal fonte de gordura. A dieta do Mediterrâneo está associada à diminuição do colesterol total e do LDL no soro – mas pouca mudança no colesterol HDL – quando comparada a uma dieta ocidental típica, rica em gordura saturada. Os triacilgliceróis plasmáticos não são alterados.

3. **Gorduras poli-insaturadas.** Os triacilgliceróis contendo principalmente ácidos graxos com mais de uma ligação dupla são chamados de gorduras poli-insaturadas. Os efeitos dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, de *polyunsaturated fatty acids*) nas doenças cardiovasculares são influenciados pela localização da ligação dupla dentro da molécula.

a. **Ácidos graxos ω-6.** São ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, com a primeira ligação dupla começando no

carbono seis (contado a partir da extremidade metila da molécula do ácido graxo).



(Nota: esses ácidos graxos são também chamados ácidos graxos n-6 [veja a p. 183].) O consumo de gorduras contendo ácidos graxos poli-insaturados ω -6, principalmente o ácido linoleico 18:2(9,12), obtido de óleos vegetais, diminui o colesterol plasmático quando substitui gordura saturada. As LDL diminuem no plasma, mas as HDL, que protegem contra DCC, também diminuem. Os poderosos benefícios da diminuição nas LDL são somente parciais, por causa da diminuição nas HDL. Nozes, abacate, azeitonas, soja e vários óleos, incluindo óleos de gergelim, algodão e milho, são fontes comuns desses ácidos graxos (veja a Figura 27.10). O ácido linoleico e o ácido α -linolênico 18:3(9,12,15), um ácido graxo ω -3, (veja a seguir) são ácidos graxos essenciais, necessários para a fluidez da estrutura das membranas e para a síntese de eicosanoides (veja a p. 213). (Nota: a deficiência de ácidos graxos essenciais é caracterizada por dermatite escamosa, perda de cabelo e cicatrização deficiente.) Limites mínimos de 5% das calorias são necessários para atingir a IA para o ácido linoleico. Um limite máximo é estabelecido para o ácido linoleico ao redor de 10% do total de calorias, uma vez que a oxidação desses ácidos graxos poli-insaturados pode levar a produtos deletérios.

- b. Ácidos graxos ω -3.** São ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, com a primeira ligação dupla no terceiro carbono (quando contado a partir da extremidade metila da molécula de ácido graxo). Gorduras poli-insaturadas ω -3 da dieta suprimem arritmias cardíacas, reduzem triacilgliceróis séricos, diminuem a tendência à trombose, diminuem a pressão sanguínea e reduzem substancialmente o risco de mortalidade por doença cardiovascular (Figura 27.12), porém apresentam pouco efeito nos níveis de colesterol LDL e HDL. As gorduras poli-insaturadas ω -3 são encontradas em plantas, principalmente o ácido α -linolênico, 18:3(9,12,15). O intervalo aceitável para o ácido α -linolênico é de 0,6 a 1,2% do total de calorias. Óleos de peixes contêm os ácidos de cadeia longa ω -3 docosa-hexenoico (DHA) e eicosapentenoico (EPA). Recomenda-se duas refeições por semana contendo peixes mais gordurosos (p. ex., salmão). (Nota: as gorduras poli-insaturadas ω -3 são incluídas nas fórmulas de alimentos para bebês a fim de promover o neurodesenvolvimento.)

- 4. Ácidos graxos trans.** Os ácidos graxos trans (Figura 27.13) são classificados quimicamente como ácidos graxos insaturados, mas no organismo se comportam mais como ácidos graxos saturados, isto é, elevam o colesterol LDL sérico (mas não o HDL) e

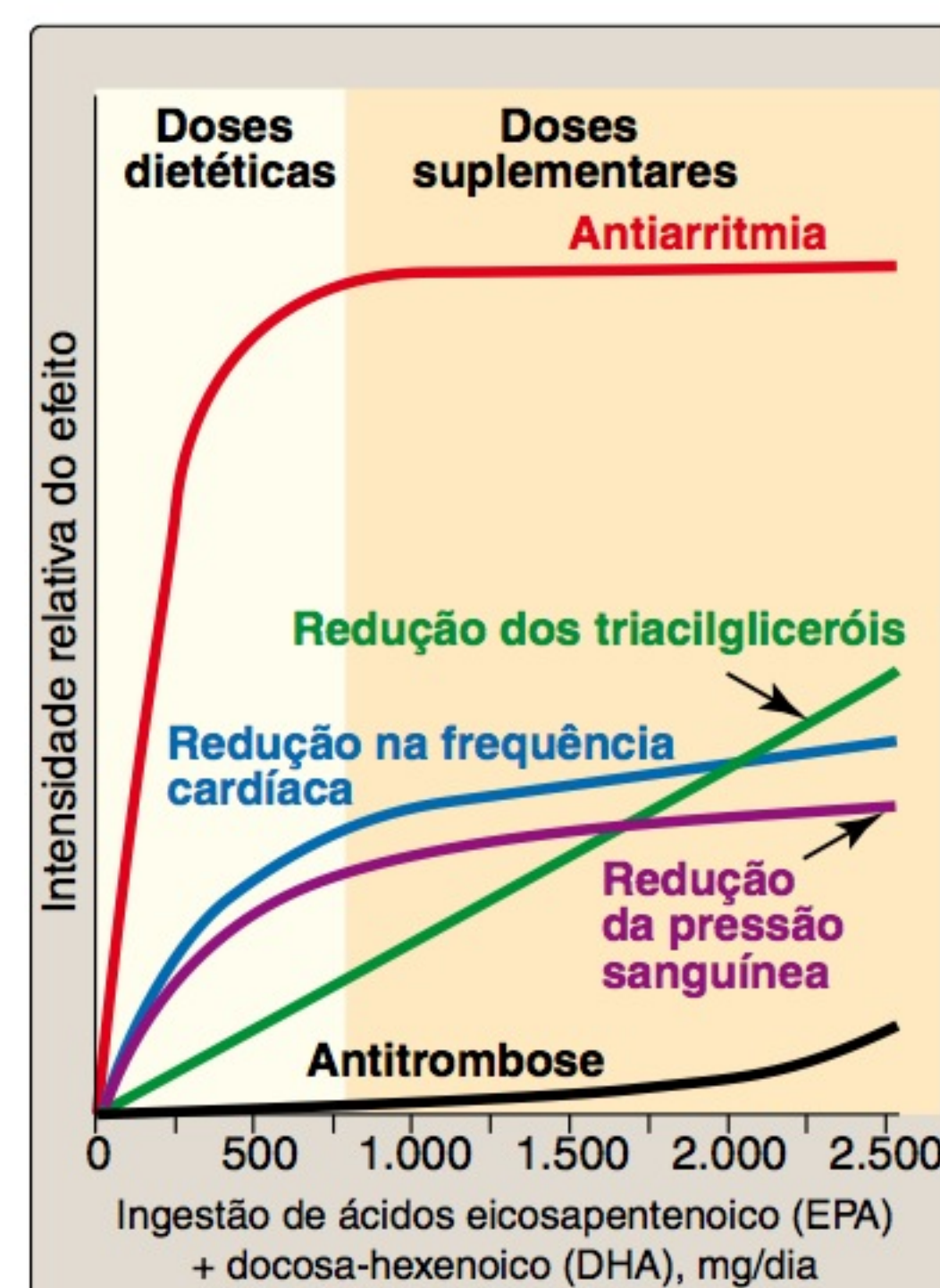


Figura 27.12

Curva dose-resposta dos efeitos fisiológicos da ingestão de óleo de peixe.

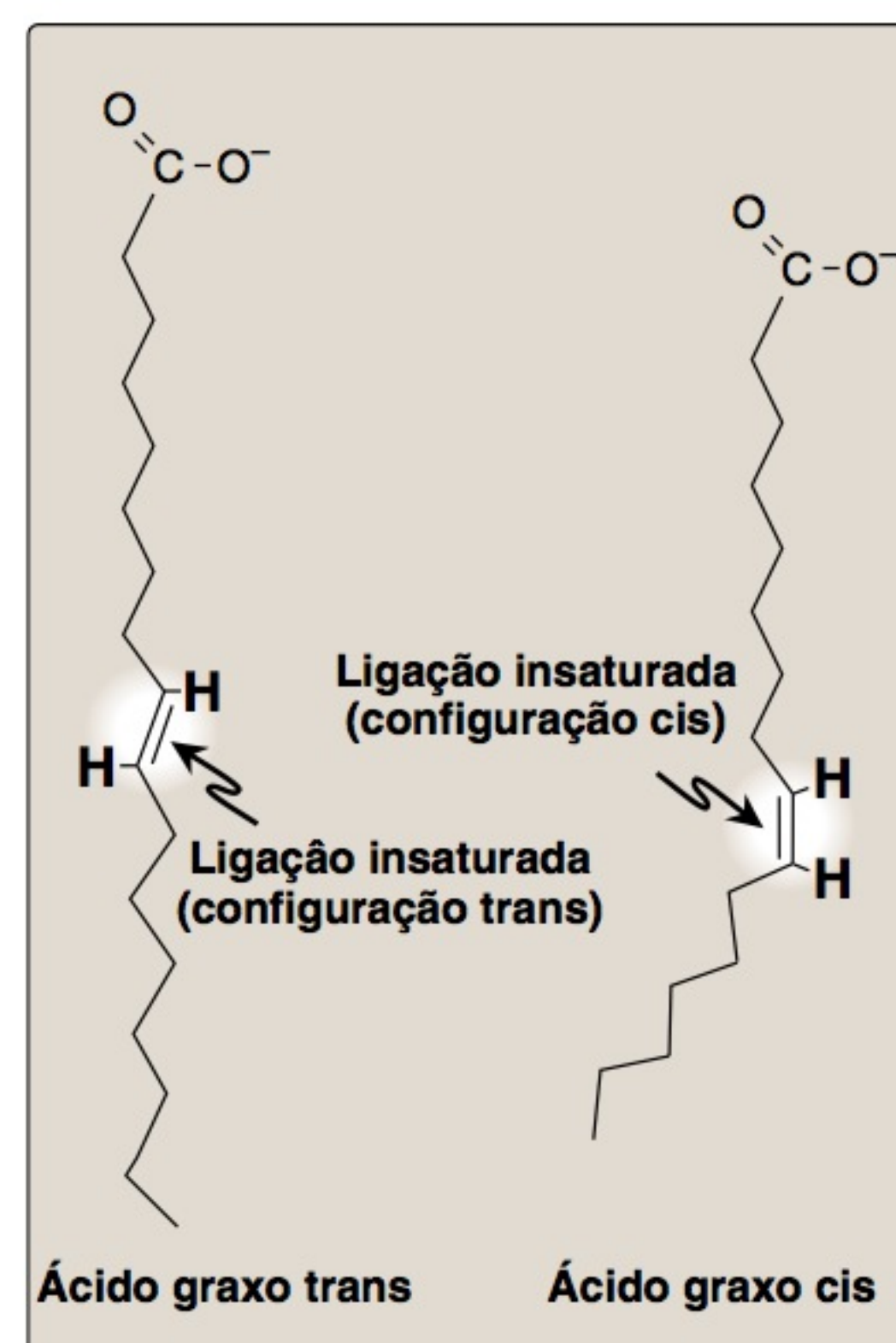
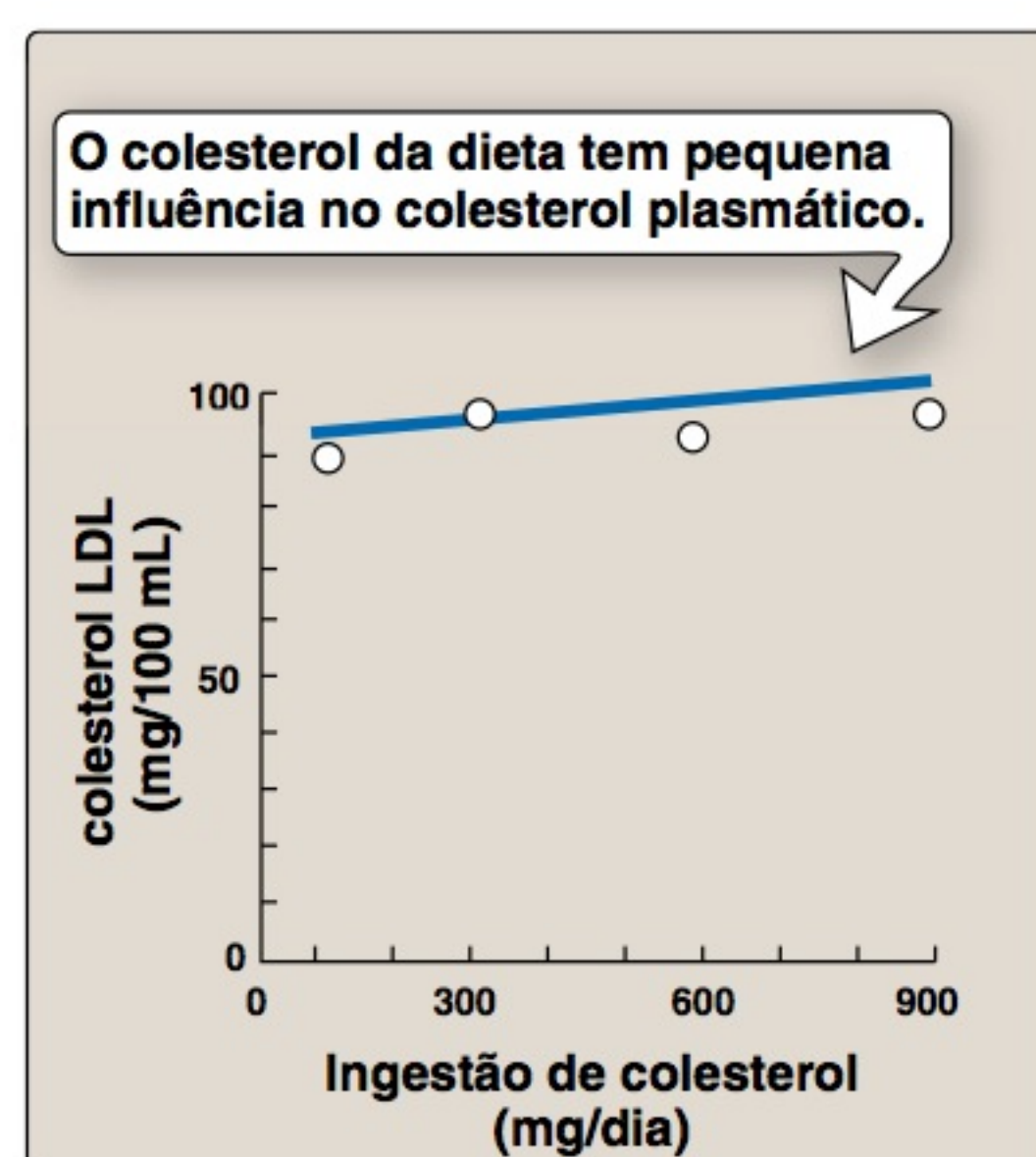


Figura 27.13

Estrutura de ácidos graxos cis e trans.

**Figura 27.14**

Resposta das concentrações plasmáticas de LDL a um aumento na ingestão de colesterol na dieta.

aumentam o risco de DCC. Os ácidos graxos trans não ocorrem naturalmente nas plantas, mas sim em pequenas quantidades nos animais. Entretanto, os ácidos graxos trans são formados durante a hidrogenação de óleos vegetais líquidos, por exemplo, na manufatura da margarina e de óleos vegetais parcialmente hidrogenados. Os ácidos graxos trans são o principal componente de muitos produtos comerciais, como biscoitos, tortas e a maioria dos alimentos fritos. Muitos fabricantes reformularam seus produtos para que fossem livres de gorduras trans. A partir de 2006, a agência do governo norte-americano encarregada da regulamentação de alimentos e produtos médicos (FDA) começou a exigir que os rótulos nutricionais mostrassem o conteúdo de gordura trans. Algumas cidades, como Nova York, baniram o uso de gordura trans nos restaurantes.

- 5. Colesterol da dieta.** O colesterol é encontrado somente em produtos animais. O efeito do colesterol da dieta no colesterol plasmático (Figura 27.14) é menos importante do que a quantidade e os tipos de ácidos graxos consumidos.

C. Outros fatores da dieta que afetam doenças cardíacas coronarianas

O consumo moderado de álcool (p. ex., dois drinques por dia) diminui o risco de DCC, pois existe uma correlação positiva entre o consumo moderado de álcool e as concentrações plasmáticas de HDL. Entretanto, devido aos potenciais riscos do abuso de álcool os profissionais da saúde são relutantes em recomendar aumento do consumo de álcool, a seus pacientes. O vinho tinto pode fornecer benefícios cardioprotetores adicionais àqueles resultantes do seu conteúdo de álcool; por exemplo, o vinho tinto contém compostos fenólicos que inibem a oxidação de lipoproteínas (veja a p. 235). (Nota: esses antioxidantes também estão presentes em passas de uva e suco de uva.) A Figura 27.15 resume os efeitos das gorduras da dieta.

TIPO DE GORDURA	EFEITOS METABÓLICOS	EFEITOS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS
Ácido graxo trans	↑ LDL ↓ HDL	↑ Incidência de doença cardíaca coronariana
Ácido graxo saturado	↑ LDL Pouco efeito nas HDL	↑ Incidência de doença cardíaca coronariana; pode aumentar risco de câncer de próstata e de cólon
Ácido graxo monoinsaturado	↓ LDL ↓ HDL	↓ Incidência de doença cardíaca coronariana
Ácidos graxos poli-insaturados ω-6	↓ LDL ↓ HDL Fornece o ácido araquidônico, importante precursor de prostaglandinas e leucotrienos	↓ Incidência de doença cardíaca coronariana
Ácidos graxos poli-insaturados ω-3	Pouco efeito nas LDL Pouco efeito nas HDL Suprime arritmias cardíacas, reduz triacilgliceróis no soro, reduz tendência à trombose, reduz pressão sanguínea	↓ Incidência de doença cardíaca coronariana ↓ Risco de morte súbita cardíaca

Figura 27.15

Efeito das gorduras da dieta.

VI. CARBOIDRATOS DA DIETA

O principal papel dos carboidratos da dieta é fornecer energia. Embora a ingestão calórica nos Estados Unidos tenha mostrado um modesto aumento desde 1971, a incidência de obesidade tem aumentado consideravelmente (veja a p. 349). Durante esse mesmo período, o consumo de carboidratos tem aumentado significativamente, levando alguns observadores a ligar a obesidade ao consumo de carboidratos. Entretanto, a obesidade também tem sido relacionada ao aumento do estilo de vida sedentário e a alimentos densos em calorias, servidos em porções maiores. *A priori*, o consumo de carboidratos não é engordante.

A. Classificação dos carboidratos

Os carboidratos da dieta são classificados como monossacarídeos e dissacarídeos (açúcares simples), polissacarídeos (açúcares complexos) ou fibras.

1. **Monossacarídeos.** Glicose e frutose são os principais monossacarídeos encontrados nos alimentos. A glicose é abundante em frutas, milho, xarope de milho e mel. A frutose livre é encontrada, junto com a glicose livre e a sacarose, no mel e nas frutas.

- a. **Xarope de milho rico em frutose.** Xaropes de milho ricos em frutose (HFCS, de *high-fructose corn syrups*) são xaropes de milho que sofreram um processamento enzimático para converter a glicose em frutose e posteriormente foram misturados ao xarope de milho puro (100% de glicose) para produzir o sabor doce desejado. Nos Estados Unidos, o HFCS 55 (contendo 55% de frutose e 42% de glicose) é comumente usado como um substituto da sacarose nas bebidas, incluindo refrigerantes, e o HFCS 42 é usado em alimentos processados. A composição e o metabolismo dos HFCS e da sacarose são similares, sendo que a maior diferença reside no fato de que os HFCS são ingeridos como uma mistura de monossacarídeos (Figura 27.16). A maioria dos estudos não encontra diferenças na glicose pós-prandial ou resposta insulínica ao comparar as refeições contendo sacarose ou HFCS.

2. **Dissacarídeos.** Os dissacarídeos mais abundantes são sacarose (glicose + frutose), lactose (glicose + galactose) e maltose (glicose + glicose). A sacarose, o açúcar comum, é abundante em melaços e xaropes. A lactose é o principal açúcar encontrado no leite. A maltose é um produto da digestão enzimática de polissacarídeos. Também é encontrada em quantidades significativas em cerveja e licores de malte. O termo “açúcar” se refere a monossacarídeos e dissacarídeos. “Açúcar adicionado” se refere àqueles açúcares e xaropes adicionados a alimentos durante o processamento ou a preparação.
3. **Polissacarídeos.** Carboidratos complexos são polissacarídeos (mais frequentemente, polímeros de glicose), que não apresentam sabor doce. O amido é um exemplo de carboidrato complexo, encontrado abundantemente em plantas. Fontes comuns incluem trigo e outros grãos, batata, ervilha seca, feijão seco e vegetais.
4. **Fibras.** As fibras da dieta são definidas como carboidratos não digeríveis e lignina (um polímero complexo de subunidades de fenilpropanoide), presentes nas plantas. Vários termos diferentes

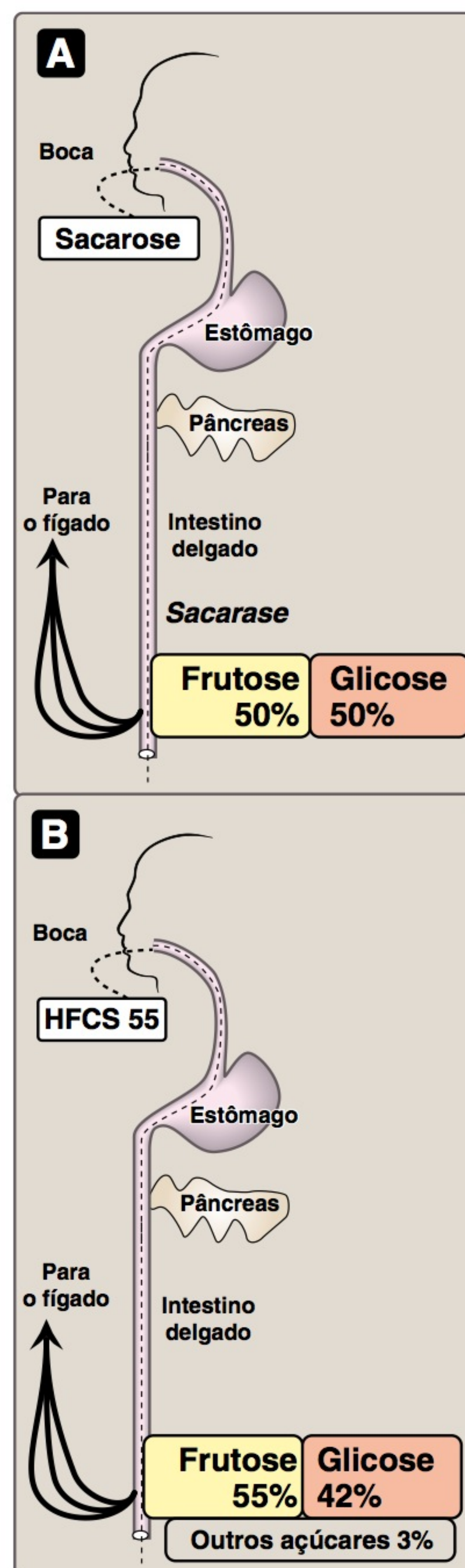
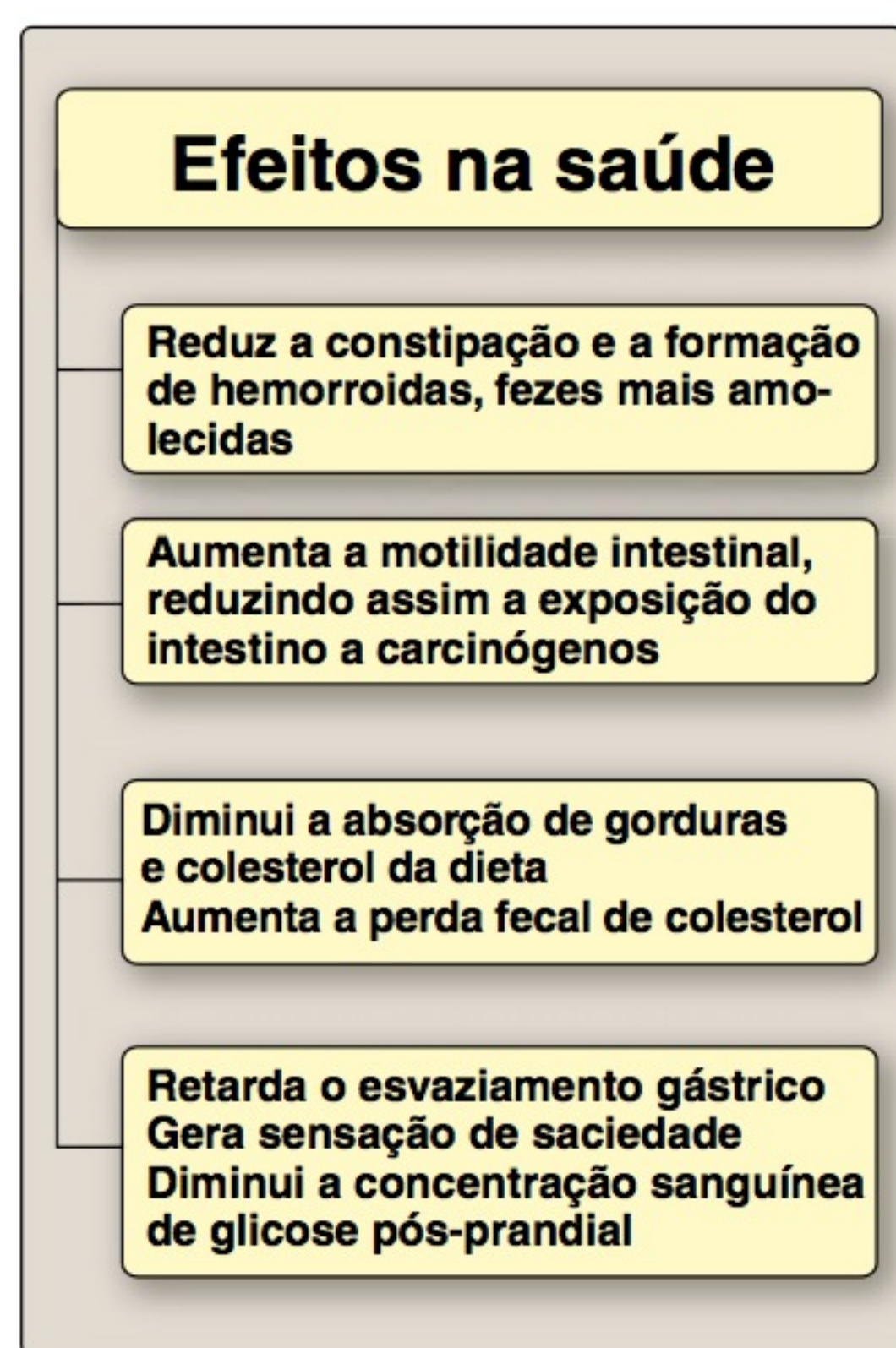


Figura 27.16

A digestão do xarope de milho rico em frutose a 55% (HFCS 55) ou de sacarose leva à absorção de glicose e frutose.

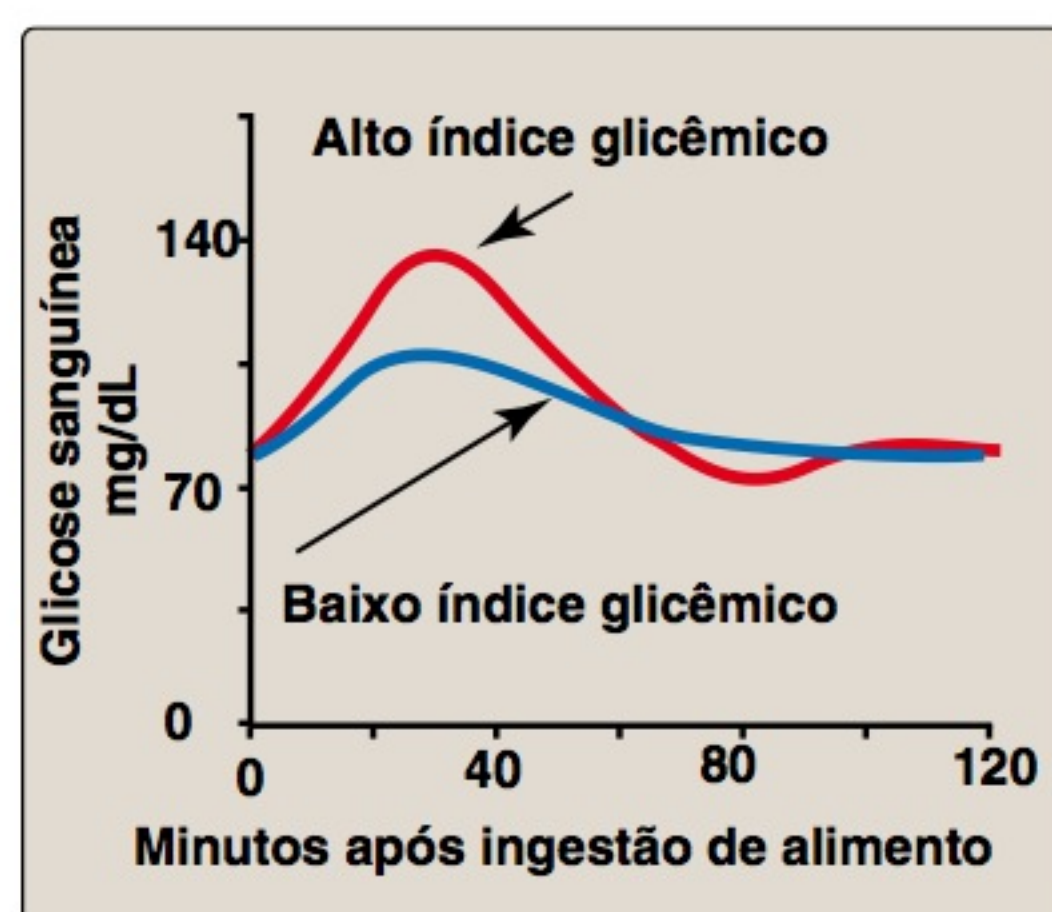
**Figura 27.17**

Ações das fibras dietéticas.

são usados para descrever esse grupo complexo de compostos. Por exemplo, fibra funcional é a fibra isolada, extraída ou sintética, que provou ter efeitos benéficos à saúde. A fibra total é o total de fibras da dieta mais as fibras funcionais. A fibra solúvel se refere à parte comestível das plantas que é resistente à digestão e à absorção no intestino delgado humano, mas é completa ou parcialmente fermentada a ácidos graxos de cadeia curta no intestino grosso. A fibra insolúvel passa através do trato digestório praticamente intacta. As fibras da dieta fornecem pouca energia, mas têm muitos efeitos benéficos. Primeiro, adicionam volume à dieta (Figura 27.17). As fibras podem absorver 10 a 15 vezes seu próprio peso em água, drenando fluidos para o lúmen do intestino e aumentando a motilidade intestinal. As fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico e podem levar a uma sensação de saciedade. Esse retardo no esvaziamento também resulta na redução dos picos de glicose no sangue após a alimentação. Em segundo lugar, o consumo de fibra solúvel é capaz de baixar os níveis de colesterol LDL, por meio do aumento da excreção de ácidos biliares fecais e da interferência na reabsorção de ácidos biliares. Por exemplo, dietas ricas em fibra solúvel (25 a 50 g/dia) como farelo de aveia estão associadas a uma modesta, mas significativa, redução no risco de doença cardiovascular, por causa da diminuição nos níveis de colesterol total e LDL. Da mesma forma, dietas ricas em fibras diminuem o risco de constipação, hemorroidas e diverticulose. A ingestão diária recomendada (IA) de fibras é 25 g/dia para mulheres e 38 g/dia para homens. Entretanto, a maioria das dietas norte-americanas está muito abaixo disso – aproximadamente 15 g/dia.

B. Carboidratos da dieta e glicose sanguínea

Alguns alimentos que contêm carboidratos produzem aumento rápido seguido por queda abrupta nas concentrações sanguíneas de glicose, ao passo que outros resultam em aumento gradual seguido por declínio lento – eles diferem em sua resposta glicêmica. O índice glicêmico foi proposto para quantificar essas diferenças no curso temporal das concentrações pós-prandiais de glicose (Figura 27.18). O índice glicêmico é definido como a área sob a curva da concentração de glicose plasmática, observada após a ingestão de uma refeição com alimentos ricos em carboidratos, comparada com a área sob a curva da concentração de glicose plasmática observada após uma refeição consistindo na mesma quantidade de carboidratos (50 g), na forma de glicose ou pão branco. A importância clínica do índice glicêmico é controversa. Alimentos com baixo índice glicêmico tendem a criar uma sensação de saciedade por um período maior e podem ser úteis para a limitação do aporte calórico. (Nota: carga glicêmica é o quanto uma porção típica de um alimento é capaz de elevar a glicose plasmática. Um alimento [p. ex., cenoura] pode ter ao mesmo tempo um alto índice glicêmico e baixa carga glicêmica.)

**Figura 27.18**

Concentrações de glicose sanguínea após a ingestão de alimento com baixo e alto índice glicêmico.



Muitos especialistas acreditam que alimentos altamente nutritivos e ricos em fibras, como grãos integrais, frutas e vegetais, são melhores guias do que o índice glicêmico para selecionar os carboidratos da dieta.

C. Necessidades de carboidratos

Os carboidratos não são nutrientes essenciais, porque o esqueleto de carbono da maioria dos aminoácidos pode ser convertido em glicose (veja a p. 261). Entretanto, a ausência de carboidratos na dieta leva à produção de corpos cetônicos (veja a p. 262) e à degradação de proteínas teciduais, cujos aminoácidos constituintes fornecem os esqueletos carbonados para a gliconeogênese (veja a p. 118). A QDR para carboidratos é cerca de 130 g/dia para adultos e crianças, com base na quantidade de glicose usada por tecidos dependentes de carboidratos, como o cérebro e os eritrócitos. Entretanto, esse nível de ingestão geralmente é ultrapassado para satisfazer as necessidades de energia. O consumo de carboidratos por adultos deve perfazer 45 a 65% do total de calorias. É recomendável que o açúcar adicionado não represente mais do que 25% do total de energia, por causa da preocupação de que o açúcar substitua alimentos ricos em nutrientes da dieta, potencialmente levando a deficiências de certos micronutrientes.

D. Açúcares simples e doenças

Não existe evidência direta de que o consumo de açúcares simples seja danoso. Contrariamente ao folclore, dietas com altos níveis de sacarose não levam a diabetes ou hipoglicemia. Também ao contrário do credo popular, carboidratos não são inerentemente engordantes. Eles produzem 4 kcal/g (o mesmo que as proteínas e menos da metade daquilo produzido pela gordura, veja a Figura 27.5) e resultam em síntese de gordura somente quando consumidos em excesso, além das necessidades de energia do organismo. Entretanto, existe associação entre o consumo de sacarose e as cáries dentárias, especialmente na ausência de tratamento com fluoreto.

Fonte	Valores EACDP
Proteínas animais	
Ovo	1,00
Proteína do leite	1,00
Carne de gado/	0,82–0,92
frango/peixe	
Gelatina	0,08
Proteínas vegetais	
Proteína de soja	1,00
Feijão	0,68
Pão de trigo integral	0,40

Figura 27.19

Qualidade relativa de algumas proteínas dietéticas comuns.

VII. PROTEÍNAS DA DIETA

Os humanos não têm necessidade dietética de proteínas *per se*, mas a proteína dos alimentos fornece aminoácidos essenciais (veja a Figura 20.2, p. 262). Nove dos vinte aminoácidos necessários para a síntese das proteínas teciduais são essenciais – isto é, não podem ser sintetizados em humanos.

A. Qualidade das proteínas

A qualidade das proteínas da dieta é medida pela sua capacidade de fornecer os aminoácidos essenciais necessários para a manutenção dos tecidos. A maioria das agências governamentais (nos Estados Unidos) adotou o Escore de Aminoácidos Corrigido para Digestibilidade da Proteína (EACDP) como o padrão para avaliar a qualidade das proteínas. O EACDP é fundamentado no perfil de aminoácidos essenciais e na digestibilidade da proteína. O escore mais alto sob essas normas é 1,00. Esse escore de aminoácidos fornece um método para contrabalançar a ingestão de proteínas de baixa qualidade e proteínas de alta qualidade.

- 1. Proteínas de fontes animais.** As proteínas de fontes animais (carnes de gado e de frango, leite, peixe) têm alta qualidade, pois contêm todos os aminoácidos essenciais em proporções similares às necessárias para a síntese de proteínas dos tecidos humanos (Figura 27.19). (Nota: a gelatina, preparada de colágeno animal, é uma exceção; ela tem baixo valor biológico, pois é deficiente em vários aminoácidos essenciais.)

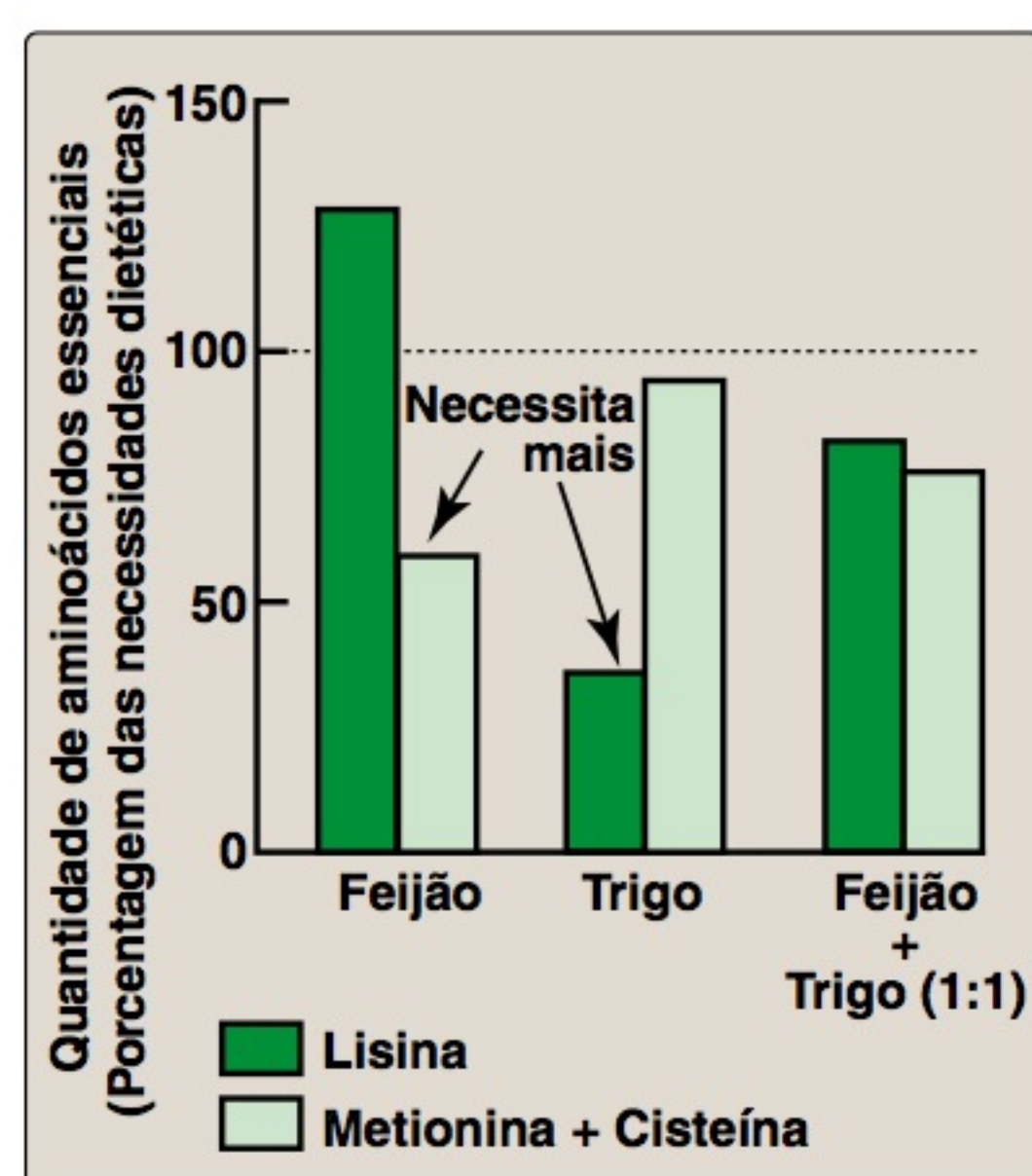


Figura 27.20

A combinação de duas proteínas incompletas, que possuem deficiências de aminoácidos complementares uma à outra, resulta em uma mistura com alto valor biológico (AVB).

- 2. Proteínas de plantas.** Proteínas obtidas a partir de trigo, milho, arroz e feijão apresentam menor qualidade, comparadas com as proteínas animais. Entretanto, proteínas de diferentes plantas podem ser combinadas de tal forma que o resultado é equivalente, em valores nutricionais, à proteína animal. Por exemplo, o trigo (deficiente em lisina, mas rico em metionina) pode ser combinado com o feijão (pobre em metionina, mas rico em lisina) para obtenção de um melhor valor biológico. Assim, a ingestão de alimentos com diferentes aminoácidos durante o dia pode resultar numa combinação dietética com valor biológico maior do que qualquer das proteínas componentes (Figura 27.20). (Nota: proteínas animais também podem complementar os valores biológicos de proteínas de plantas.)

B. Balanço nitrogenado

O balanço nitrogenado ocorre quando a quantidade de nitrogênio consumido é equivalente àquela de nitrogênio excretado na urina, no suor e nas fezes. A maioria dos adultos saudáveis está normalmente em balanço nitrogenado.

- 1. Balanço nitrogenado positivo.** Ocorre quando a ingestão de nitrogênio excede a sua excreção. É observado em situações em que ocorre crescimento tecidual; por exemplo, na infância, na gestação ou durante a recuperação de uma doença debilitante.
- 2. Balanço nitrogenado negativo.** Ocorre quando a perda de nitrogênio é maior do que a ingestão. Está associado a dieta proteica inadequada, falta de aminoácidos essenciais ou durante estresse fisiológico, como trauma, queimaduras, doença ou cirurgia.

C. Necessidades proteicas em humanos

A quantidade de proteínas necessária à dieta varia com seu valor biológico. Quanto maior a quantidade de proteína animal incluída na dieta, menos proteína é necessária. A quantidade diária recomendada (QDR) para proteínas é calculada utilizando-se proteínas de valores biológicos mistos, sendo de 0,8 g/kg de peso corporal para adultos, ou cerca de 56 g de proteína para um indivíduo de 70 kg. Pessoas que se exercitam intensa e regularmente podem necessitar de proteína extra para manter a massa muscular; uma ingestão diária de cerca de 1 g/kg tem sido recomendada para atletas. Mulheres grávidas ou amamentando necessitam de até 30 g/dia além de suas necessidades básicas. Para manter o crescimento, as crianças devem consumir 2 g/kg/dia.

Característica	Kwashiorkor	Marasmo
Peso para a idade (% do esperado)	60–80	< 60
Peso em relação à altura	Normal ou diminuído	Marcadamente diminuído
Edema	Presente	Ausente
Humor	Irritável ao manejo, apático quando deixado só	Alerta, irritável
Apetite	Fraco	Bom

Figura 27.21

Características da desnutrição calórico-proteica em crianças.

1. **Consumo de excesso de proteínas.** Não existe vantagem fisiológica em consumir proteína acima da QDR. A proteína consumida em excesso ao que o corpo necessita é desaminada, e os esqueletos carbonados resultantes são metabolizados, fornecendo energia ou acetil-coenzima A para a síntese de ácidos graxos. Quando o nitrogênio desse excesso de proteínas é eliminado do corpo, como nitrogênio urinário, geralmente é acompanhado por aumento de cálcio urinário, aumentando o risco de nefrolitíase e osteoporose.
2. **Efeito dos carboidratos poupadores de proteínas.** A necessidade dietética de proteínas é influenciada pelo conteúdo de carboidratos na dieta. Quando a ingestão de carboidratos é baixa, os aminoácidos são desaminados para fornecer esqueletos carbonados para a síntese de glicose, que é necessária como fonte de energia para o sistema nervoso central. Se a ingestão de carboidratos é menor que 130 g/dia, quantidades substanciais de proteínas são metabolizadas para fornecer precursores para a gliconeogênese. Dessa forma, os carboidratos são considerados “poupadores de proteína”, porque permitem que os aminoácidos sejam usados para reparação e manutenção das proteínas teciduais, em vez de serem usados para a gliconeogênese.

D. Desnutrição calórico-proteica

Nos países desenvolvidos, a desnutrição calórico-proteica é observada mais frequentemente em pacientes a condições médicas que diminuem seu apetite ou alteram o modo como os nutrientes são digeridos ou absorvidos, ou ainda em pacientes hospitalizados por grandes traumas ou infecções graves. (Nota: os pacientes altamente catabólicos com frequência necessitam da administração intravenosa [parenteral] ou por sonda [enteral] de nutrientes.) A desnutrição calórico-proteica também pode ser observada em crianças e idosos desnutridos. Nos países em desenvolvimento, a ingestão inadequada de proteínas e/ou de energia é a causa primária desse tipo de desnutrição. Os indivíduos afetados mostram uma variedade de sintomas, incluindo sistema imunitário deficiente, com redução na capacidade de resistir a infecções. Morte por infecções secundárias é comum. Duas formas extremas de desnutrição são o kwashiorkor e o marasmo (Figura 27.21).

1. **Kwashiorkor.** O kwashiorkor ocorre quando a privação de proteína é relativamente maior do que a redução em calorias totais. A privação de proteínas está associada a grave redução da síntese de proteína visceral. O kwashiorkor é frequentemente observado em crianças após o desmame, perto de completarem o primeiro ano de vida, quando a dieta consiste predominantemente em carboidratos. Os sintomas típicos incluem retardo no crescimento, edema, lesões de pele, despigmentação do cabelo, anorexia, fígado gorduroso e diminuição da concentração plasmática de albumina. O edema resulta da falta de proteína plasmática adequada para manter a distribuição de água entre o sangue e os tecidos, e pode mascarar a perda muscular.
2. **Marasmo.** O marasmo ocorre quando a privação de calorias é relativamente maior do que a redução em proteínas. O marasmo geralmente ocorre em crianças com menos de um ano de idade, quando o leite materno é suplementado com mamadeiras de cereais e água, que em geral são deficientes em proteína e calorias. Os sintomas típicos incluem parada do crescimento, perda muscular extrema (emaciação), fraqueza e anemia (Figura 27.22). Vítimas de marasmo não apresentam o edema ou as mudanças nas proteínas plasmáticas observadas no kwashiorkor.



Figura 27.22

A. Criança apática com kwashiorkor.
B. Criança acometida de marasmo.

VIII. RESUMO DO CAPÍTULO

A **necessidade média estimada (NME)** é a média diária de ingestão de nutrientes para satisfazer as necessidades de metade dos indivíduos saudáveis de um mesmo sexo, em um dado estágio da vida. A **quantidade diária recomendada (QDR)** é a média diária de ingestão suficiente para satisfazer as necessidades de nutrientes da quase totalidade (97 a 98%) dos indivíduos. A **ingestão adequada (IA)** é utilizada no lugar da QDR se evidências científicas suficientes não estão disponíveis para calcular a QDR. O **nível de ingestão máxima tolerável (IM)** é a média máxima de ingestão diária de nutrientes que provavelmente não coloca em risco de efeitos adversos à saúde de quase todos os indivíduos na população em geral. A energia gerada pelo metabolismo dos **macronutrientes** é usada para três processos que necessitam de energia, as quais ocorrem no organismo: **taxa metabólica de repouso, efeito térmico do alimento e atividade física**. **Variações aceitáveis na distribuição dos macronutrientes** são definidas como a variação de ingestão de um determinado macronutriente que está associada a risco reduzido de doença crônica, enquanto fornece quantidades adequadas de nutrientes essenciais. Adultos devem consumir **45 a 65%** de suas **calorias totais** em **carboidratos**, **20 a 35%** em **gorduras** e **10 a 35%** em **proteínas** (Figura 27.23). Níveis elevados de colesterol total ou colesterol LDL resultam em risco aumentado de **doenças cardiovasculares**. Em contraste, altos níveis de colesterol HDL têm sido associados a diminuição do risco de doenças cardíacas. Tratamentos dietéticos ou medicamentosos para a **hipercolesterolemia** são efetivos em diminuir a LDL, aumentar a HDL e reduzir o risco de eventos cardiovasculares. O consumo de **gorduras saturadas** está fortemente associado a altos níveis de colesterol total plasmático e colesterol LDL. **Gorduras monoinsaturadas**, quando ingeridas em lugar dos ácidos graxos saturados na dieta, diminuem tanto o colesterol plasmático total quanto o colesterol LDL, mas aumentam as HDL. O consumo de gorduras contendo **ácidos graxos poli-insaturados ω -6** diminui as LDL plasmáticas, mas as HDL, que protegem contra a doença cardíaca coronariana, também diminuem. **Gorduras poli-insaturadas ω -3** na dieta suprimem arritmias cardíacas e reduzem os triacilgliceróis séricos, diminuem a tendência à trombose e substancialmente reduzem o risco de mortalidade cardiovascular. Os **carboidratos** fornecem **energia e fibras** para a dieta. Quando consumidos como parte de uma dieta na qual a ingestão de calorias é igual à energia gasta, não levam à obesidade. As **proteínas** da dieta fornecem **aminoácidos essenciais**. A **qualidade de uma proteína** é medida por sua capacidade de fornecer **aminoácidos essenciais**, necessários para a manutenção tecidual. Proteínas de fontes animais, em geral, apresentam maior qualidade proteica do que aquelas derivadas de plantas. Entretanto, proteínas de diferentes plantas podem ser combinadas de forma que o resultado seja equivalente, em valor nutricional, ao da proteína animal. O **balanço nitrogenado positivo** ocorre quando a ingestão de nitrogênio excede a excreção. É observado em situações em que ocorre crescimento tecidual, por exemplo, durante a infância, a gestação, ou períodos de convalescença de uma doença debilitante. O **balanço nitrogenado negativo** ocorre quando a perda de nitrogênio é maior que a ingestão. Está associado a ingestão inadequada de proteínas, falta de aminoácidos essenciais, ou a estresse fisiológico, causado por trauma, queimaduras, doenças ou cirurgias. O **kwashiorkor** é causado por ingestão inadequada de proteína e caracteriza-se por edema. O **marasmo** resulta da deficiência crônica de calorias.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 27.1 Qual das afirmações abaixo sobre os lipídeos da dieta é correta?
- A. Óleo de milho e óleo de soja são exemplos de gorduras ricas em ácidos graxos saturados.
 - B. Os triacilgliceróis obtidos de plantas geralmente contêm menos ácidos graxos insaturados do que aqueles dos animais.
 - C. O óleo de oliva é rico em gordura saturada.
 - D. Ácidos graxos contendo ligações duplas na configuração trans, ao contrário dos isômeros cis que ocorrem naturalmente, aumentam os níveis plasmáticos de colesterol.
 - E. Óleo de coco e de palmeira são ricos em gorduras poli-insaturadas.

Resposta correta = D. Ácidos graxos trans aumentam os níveis plasmáticos de colesterol. Óleo de milho e óleo de soja são exemplos de gorduras ricas em ácidos graxos poli-insaturados. Triacilgliceróis obtidos de plantas geralmente contêm mais ácidos graxos insaturados do que aqueles de animais. O óleo de oliva, a base da dieta mediterrânea, é rico em gorduras monoinsaturadas. Óleos de coco e de palmeira são óleos incomuns de plantas, pois são ricos em gorduras saturadas.

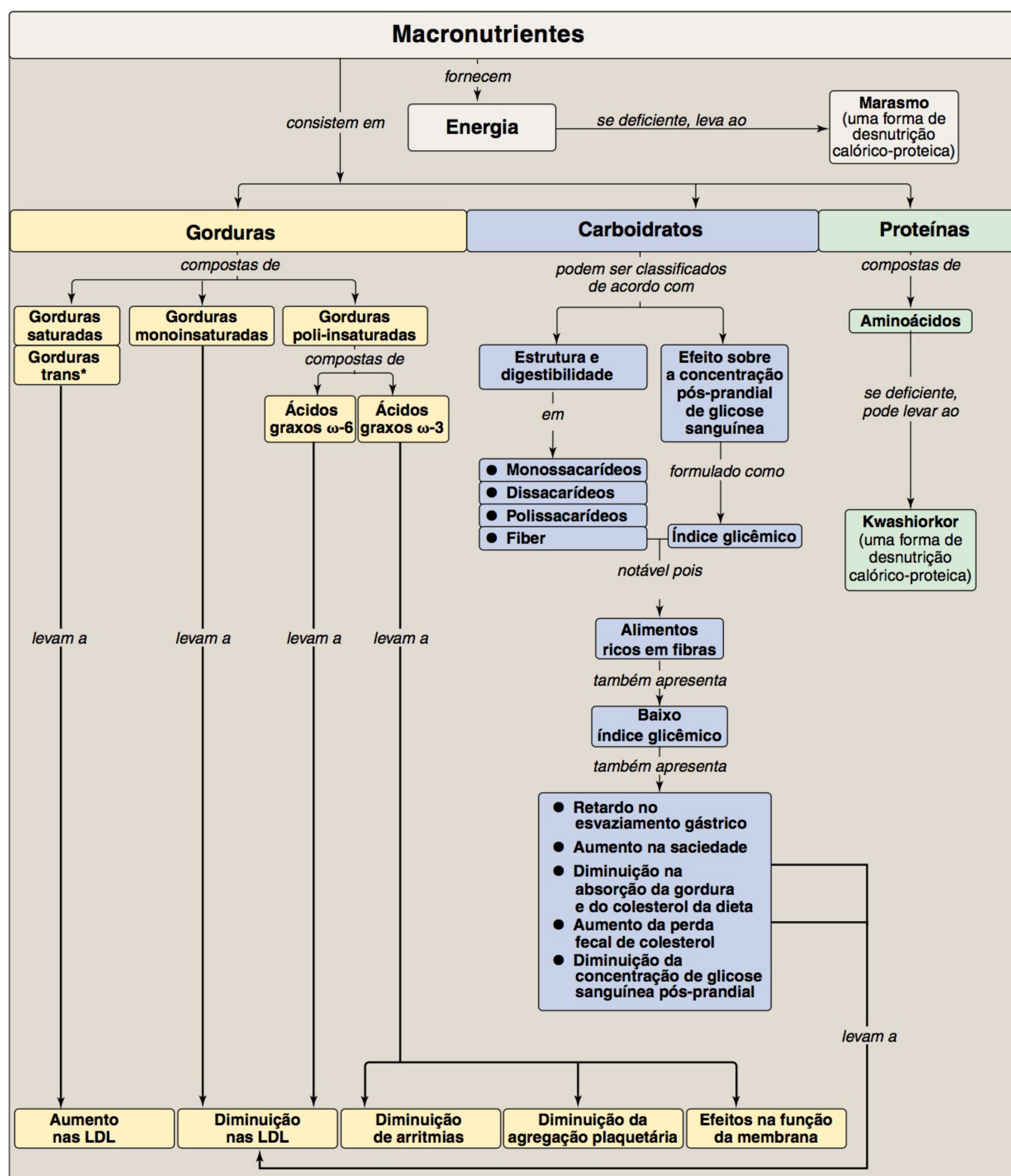


Figura 27.23

Mapa de conceitos-chave para macronutrientes. *Nota: Ácidos graxos trans são quimicamente classificados como monoinsaturados.

27.2 Com a informação de que um homem de 70 kg está consumindo diariamente uma média de 275 g de carboidratos, 75 g de proteínas e 65 g de lipídeos, a qual das conclusões abaixo você pode chegar?

- A. A ingestão total de energia por dia é aproximadamente 3.000 kcal.
- B. Cerca de 20% das calorias é obtido dos lipídeos.
- C. A dieta não contém quantidade suficiente de fibras.
- D. As proporções de carboidratos, proteínas e lipídeos da dieta estão de acordo com as recomendações dos grupos acadêmicos e das agências governamentais.
- E. O indivíduo está em balanço nitrogenado.

Resposta correta = D. A ingestão total de energia é $(275 \text{ g de carboidrato} \times 4 \text{ kcal/g}) + (75 \text{ g proteína} \times 4 \text{ kcal/g}) + (65 \text{ g lipídeo} \times 9 \text{ kcal/g}) = 1.100 + 300 + 585 = 1.985 \text{ kcal totais/dia}$. A porcentagem de calorias obtidas de carboidratos é $(1.100/1.985) \times 100 = 55$; a porcentagem de calorias de proteínas é $(300/1.985) \times 100 = 15$; e a porcentagem de calorias derivadas dos lipídeos é $(585/1.985) \times 100 = 30$. Esses valores são muito próximos aos recomendados. A quantidade de fibra ou o balanço nitrogenado não pode ser deduzido a partir dos dados apresentados. Se a proteína for de valor biológico baixo, um balanço nitrogenado negativo é possível.

27.3 Um homem de 50 anos, sedentário, pesando 80 kg, solicita um exame físico. Ele nega qualquer problema de saúde. A análise sanguínea de rotina é normal, exceto pelo colesterol plasmático de 280 mg/dL. O homem recusa o uso de fármacos para tratamento da hipercolesterolemia. A análise da dieta de um dia mostra o seguinte:

Quilocalorias	3.475 kcal	Colesterol	822 mg
Proteínas	102 g	Gorduras saturadas	69 g
Carboidratos	383 g	Gordura total	165 g
Fibras	6 g		

Mudanças em qual componente da dieta terão maior efeito na redução do colesterol plasmático?

- A. Colesterol
- B. Gordura saturada
- C. Gordura poli-insaturada
- D. Gordura monoinsaturada
- E. Carboidratos

Resposta correta = B. A ingestão de gordura saturada influencia fortemente o colesterol plasmático nesta dieta. O paciente está consumindo uma dieta de alto conteúdo calórico, com altas taxas de gordura, sendo 40% de gordura saturada. As recomendações dietéticas mais importantes são: diminuir a ingestão calórica total, substituir a gordura saturada pela gordura monoinsaturada e poli-insaturada e aumentar as fibras da dieta. Uma diminuição do colesterol na dieta será útil, mas não é o principal objetivo.

27.4 Qual dos achados na criança mostrada na figura seria compatível com um diagnóstico de kwashiorkor?

- A. Aumento da albumina sérica
- B. Bom apetite
- C. Parece roliça pelo aumento do tecido adiposo
- D. Demonstra edema abdominal e periférico
- E. Tem um peso marcadamente diminuído com relação à altura.



Resposta correta = D. O kwashiorkor é causado por um consumo inadequado de proteínas na presença de um consumo suficiente a adequado de calorias. Os achados típicos de um paciente com kwashiorkor incluem edema abdominal e periférico (note o abdome e as pernas edemaciadas da criança) causado principalmente por uma diminuição na concentração de albumina sérica. A anorexia está quase sempre presente. O peso pode ser normal com relação à altura. O tratamento inclui uma dieta adequada em calorias e proteína.

Vitaminas

28

I. VISÃO GERAL

As vitaminas são compostos orgânicos não relacionados quimicamente, que não podem ser sintetizados por humanos em quantidades adequadas e, portanto, devem ser supridos pela dieta. Nove vitaminas (ácido fólico, cobalamina, ácido ascórbico, piridoxina, tiamina, niacina, riboflavina, biotina e ácido pantotênico) são classificadas como hidrossolúveis, ao passo que quatro vitaminas (vitaminas A, D, K e E) são ditas lipossolúveis (Figura 28.1). As vitaminas são necessárias para a execução de funções celulares específicas. Por exemplo, muitas das vitaminas hidrossolúveis são precursoras de coenzimas para as enzimas do metabolismo intermediário. Em contraste com as vita-

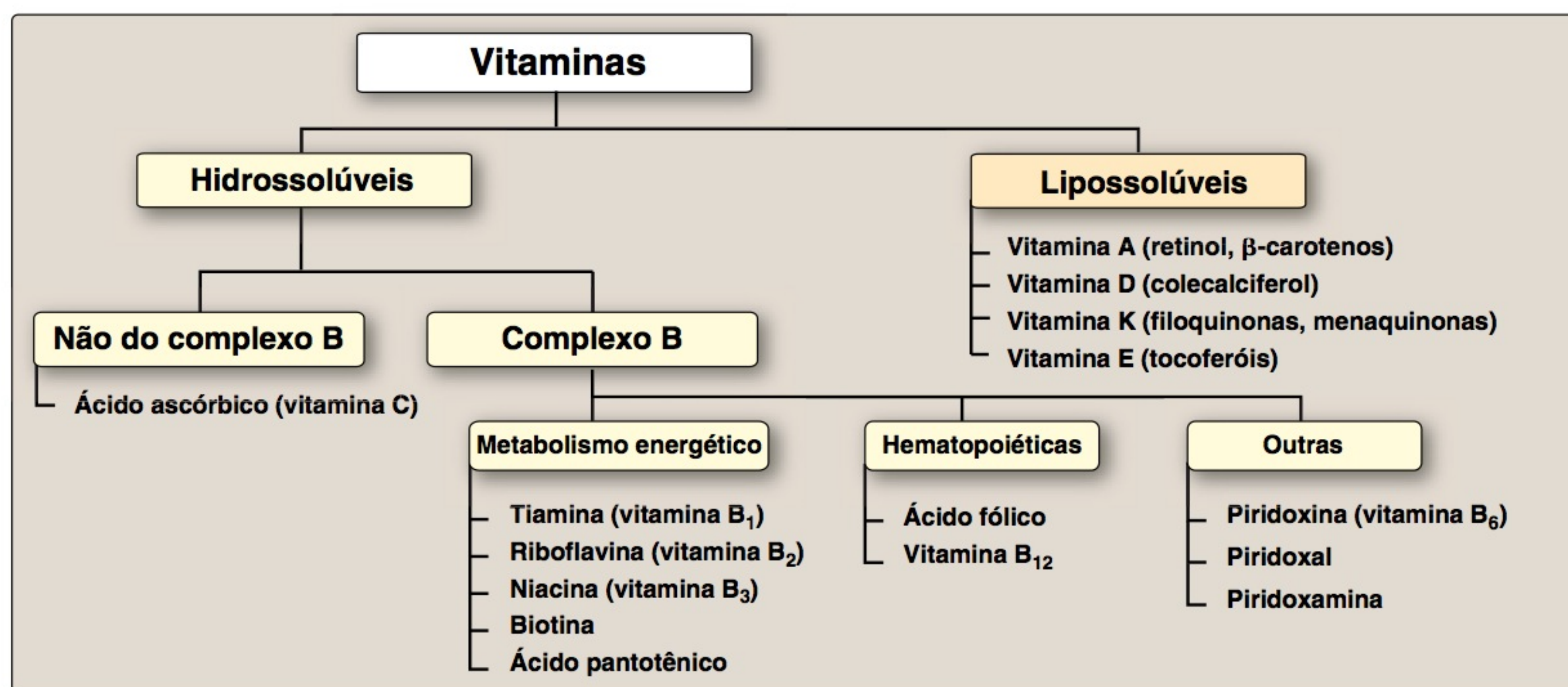
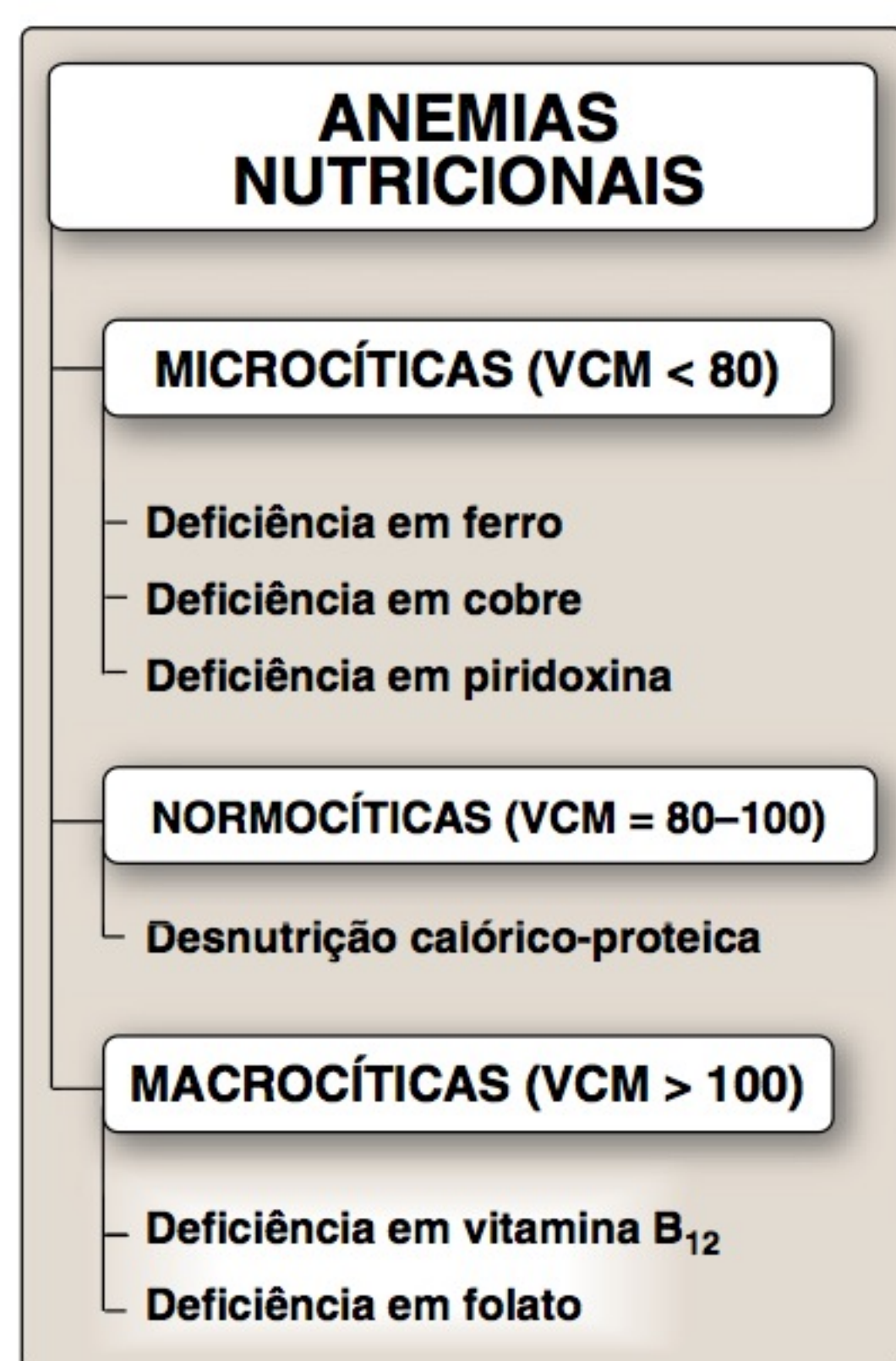


Figura 28.1

Classificação das vitaminas.

**Figura 28.2**

Classificação das anemias nutricionais de acordo com o tamanho celular. O volume corpuscular médio (VCM) normal para pessoas acima de 18 anos é de 80 a 100 μm^3 . (Nota: a anemia microcítica também é observada no envenenamento por chumbo.)

minas hidrossolúveis, somente uma vitamina lipossolúvel (a vitamina K) tem função de coenzima. As vitaminas lipossolúveis são liberadas, absorvidas e transportadas com a gordura da dieta. Elas não são facilmente excretadas na urina, e quantidades significantes são armazenadas no fígado e no tecido adiposo. De fato, o consumo excessivo de vitaminas A e D, acima das recomendações dietéticas de referência (IDR), pode levar ao acúmulo de quantidades tóxicas desses compostos.

II. ÁCIDO FÓLICO

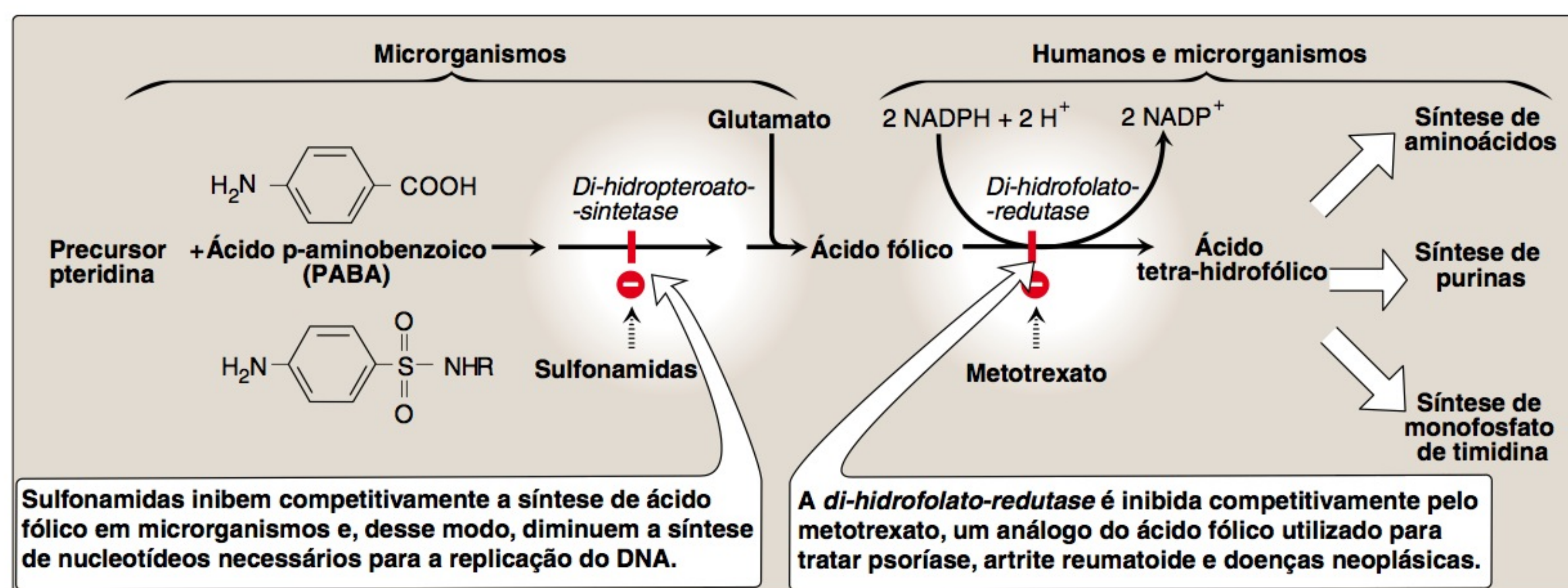
O ácido fólico (ou folato), que desempenha um papel-chave no metabolismo dos grupos de um carbono, é essencial para a biossíntese de vários compostos. A deficiência de ácido fólico é provavelmente a deficiência vitamínica mais comum nos Estados Unidos, principalmente entre mulheres grávidas e entre alcoolistas.

A. Função do ácido fólico

O tetra-hidrofolato (folato reduzido) recebe fragmentos de um carbono de doadores, como a serina, a glicina e a histidina, e os transfere para intermediários na síntese de aminoácidos, purinas e monofosfato de timidina (TMP), uma pirimidina encontrada no DNA.

B. Anemias nutricionais

A anemia é uma condição na qual o sangue apresenta concentração de hemoglobina abaixo do normal, o que resulta na redução da sua capacidade de transportar oxigênio. As anemias nutricionais – causadas pela ingestão inadequada de um ou mais nutrientes essenciais – podem ser classificadas de acordo com o tamanho dos eritrócitos ou com o volume corpuscular médio observado (Figura 28.2). A anemia microcítica, causada por falta de ferro, é a forma mais comum de anemia nutricional. A segunda principal categoria de anemia nutricional, a macrocítica, resulta da deficiência em ácido fólico ou em vitamina B₁₂. (Nota: essas anemias macrocíticas são comumente chamadas de megaloblásticas, porque uma deficiência de ácido fólico ou vitamina B₁₂ causa o acúmulo de precursores grandes e imaturos do eritrócito, conhecidos como megaloblastos, na medula óssea e no sangue.)

**Figura 28.3**

Inibição da síntese de tetra-hidrofolato por sulfonamidas e metotrexato.

1. **Folato e anemia.** Níveis séricos inadequados de folato podem ser causados por aumento na demanda (p. ex., durante a gestação e a lactação), ou por absorção deficiente, causada por patologia do intestino delgado, alcoolismo ou tratamento com fármacos inibidores da *di-hidrofolato-redutase*, como por exemplo o metotrexato (Figura 28.3). Uma dieta sem folato pode causar deficiência em poucas semanas. O principal resultado da deficiência de ácido fólico é a anemia megaloblástica (Figura 28.4), causada pela diminuição na síntese de purinas e TMP, o que leva a uma incapacidade da célula (incluindo precursores de eritrócitos) de produzir DNA, o que a impede de se dividir. (Nota: é importante avaliar a causa da anemia megaloblástica antes de instituir a terapia, porque a deficiência de vitamina B₁₂ causa indiretamente sintomas dessa doença [veja a p. 376].)
2. **Folato e defeitos do tubo neural em fetos.** A espinha bífida e a anencefalia, os defeitos mais comuns do tubo neural, afetam anualmente cerca de 4.000 gestações nos Estados Unidos. Tem sido relatado que a suplementação de ácido fólico antes da concepção e durante o primeiro trimestre de gestação diminui significativamente esses defeitos. Assim, todas as mulheres em idade fértil deveriam consumir 0,4 mg/dia de ácido fólico para reduzir o risco de ter uma gestação afetada por defeitos do tubo neural. Uma nutrição adequada de folato deve ocorrer no momento da concepção, porque o desenvolvimento crítico dependente de folato ocorre nas primeiras semanas do desenvolvimento fetal – período em que muitas mulheres ainda não têm consciência da sua gravidez. A agência norte-americana responsável pelo controle de alimentos e fármacos (FDA) tem autorizado a adição de ácido fólico para enriquecer produtos de grãos, resultando em suplementação na dieta de aproximadamente 0,1 mg/dia. Estima-se que essa suplementação irá permitir que cerca de 50% de todas as mulheres em idade reprodutiva recebam 0,4 mg de folato na soma de todas as fontes. Entretanto, existe uma associação entre suplementação com altas doses de ácido fólico (> 0,8 mg/dia) e o aumento no risco de câncer. Portanto, a suplementação não é recomendada para a maioria dos adultos de meia idade e idosos.

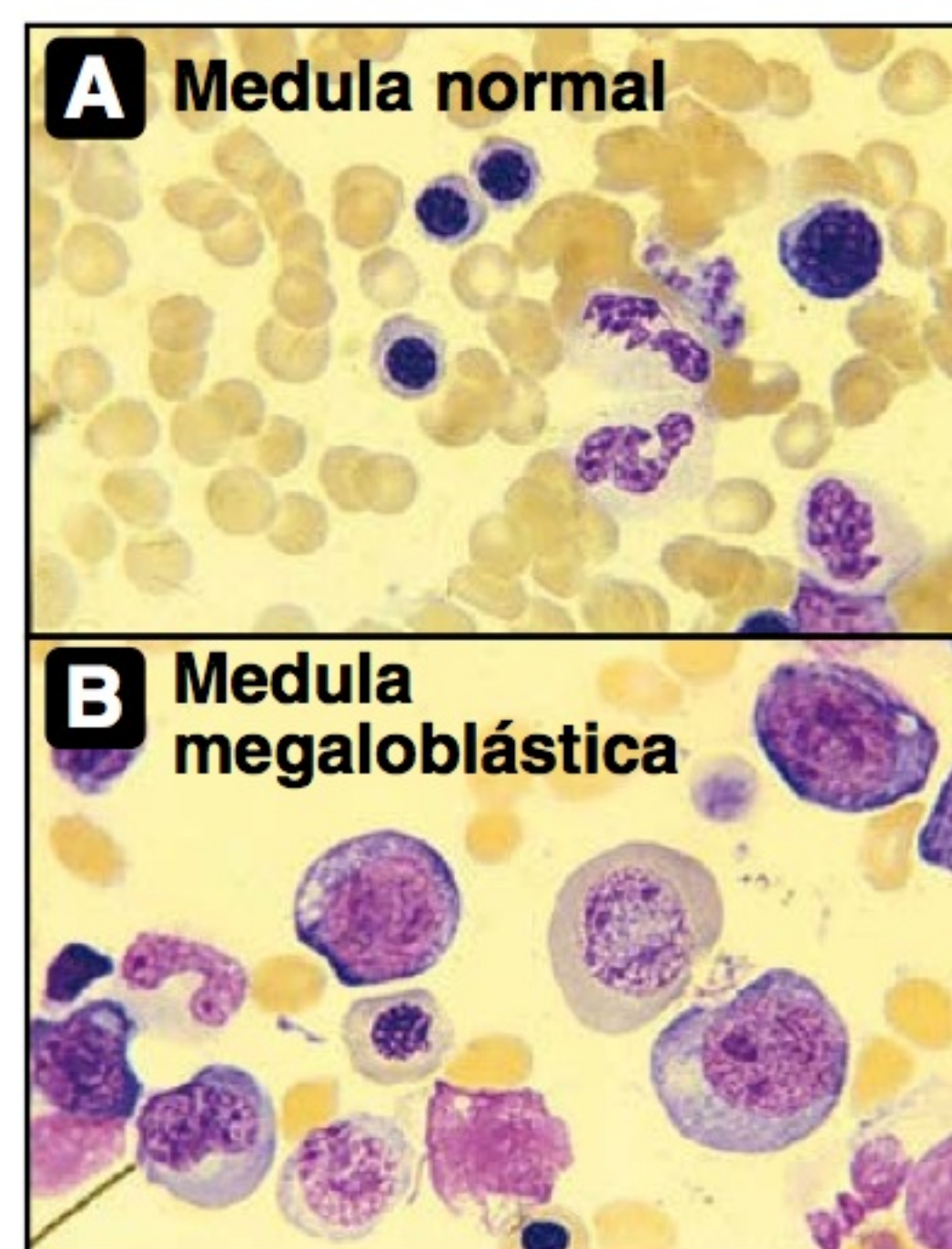


Figura 28.4

Histologia da medula óssea em indivíduos normais e com deficiência de folato.

III. COBALAMINA (VITAMINA B₁₂)

Em humanos, a vitamina B₁₂ é necessária para duas reações enzimáticas essenciais: a remetilação da homocisteína em metionina e a isomerização da metilmalonil-coenzima A (CoA), que é produzida durante a degradação de alguns aminoácidos (isoleucina, valina, treonina e metionina) e ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono (Figura 28.5). Quando há deficiência dessa vitamina, ácidos graxos incomuns acumulam-se e são incorporados nas membranas celulares, incluindo as do sistema nervoso. Isso pode contribuir para algumas das manifestações neurológicas da deficiência da vitamina B₁₂.

A. Estrutura da cobalamina e suas formas de coenzima

A cobalamina contém um sistema de anel corrina que difere das porfirinas, pois dois de seus anéis pirrol estão ligados diretamente, em vez de por meio de uma ponte meteno. O cobalto é mantido no centro do anel corrina por quatro ligações coordenadas com os nitrogênios dos grupos pirrol. Em preparações comerciais da vitamina, as demais ligações coordenadas do cobalto são com o nitrogênio do 5,6-dimetilbenzimidazol e com o cianeto na forma de cianocobalamina (Figura 28.6). As formas

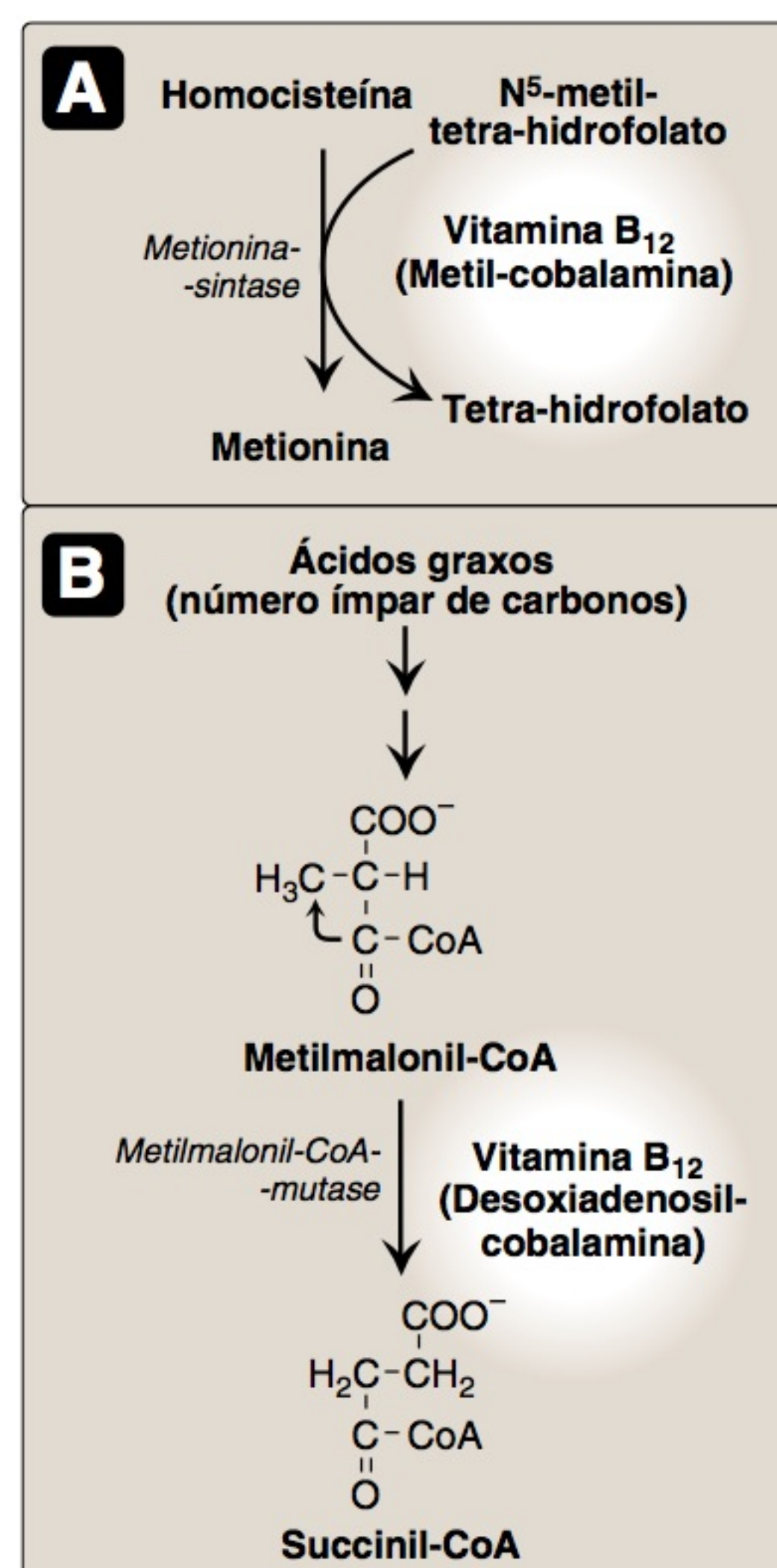


Figura 28.5

Reações que necessitam de formas de coenzima da vitamina B₁₂.

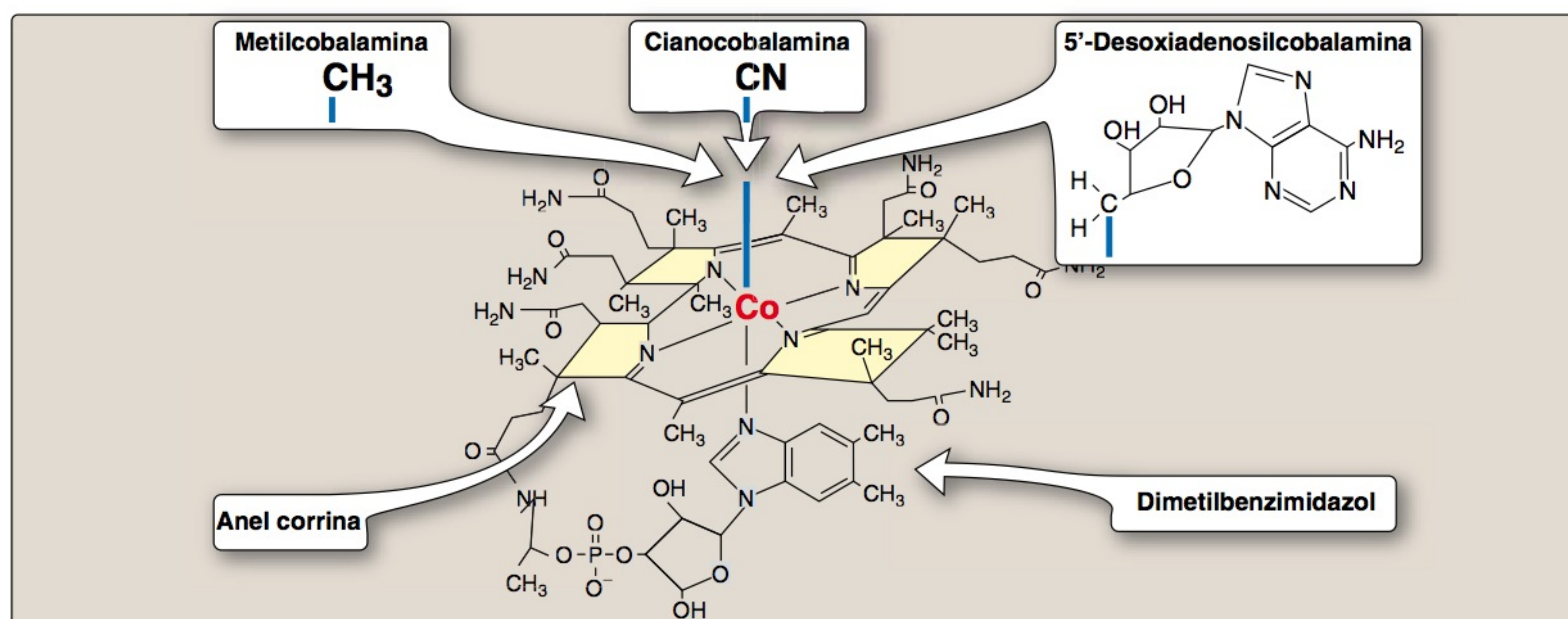


Figura 28.6

Estrutura da vitamina B₁₂ (cianocobalamina) e suas formas de coenzima (metilcobalamina e 5'-desoxiadenosilcobalamina).

de coenzima da cobalamina são 5'-desoxiadenosilcobalamina, em que o cianeto é substituído pela 5'-desoxiadenosina (formando uma ligação não usual carbono-cobalto), e a metilcobalamina, em que o cianeto é substituído por um grupo metila (veja a Figura 28.6).

B. Distribuição da cobalamina

A vitamina B₁₂ é sintetizada somente por microrganismos; não está presente nos vegetais. Os animais obtêm a vitamina pré-formada a partir de sua flora bacteriana natural ou pela ingestão de alimentos derivados de outros animais. A cobalamina está presente em quantidades apreciáveis no fígado, no leite integral, em ovos, ostras, camarões frescos e nas carnes de porco e de galinha.

C. Hipótese da captura do folato

Os efeitos da deficiência de cobalamina são mais pronunciados em células que se dividem rapidamente, como o tecido eritropoiético da medula óssea e as células da mucosa intestinal. Esses tecidos necessitam das formas N⁵-N¹⁰-metileno e N¹⁰-formil do tetra-hidrofolato para a síntese de nucleotídeos, necessários para a replicação do DNA (veja as p. 293 e 303). Entretanto, na deficiência da vitamina B₁₂, a utilização da forma N⁵-metil-tetra-hidrofolato na metilação dependente de B₁₂ da homocisteína à metionina é prejudicada. Uma vez que a forma metilada não pode ser convertida diretamente em outras formas de tetra-hidrofolato, o folato é capturado na forma N⁵-metil-tetra-hidrofolato, que se acumula. Os níveis das outras formas diminuem. Assim, levanta-se a hipótese de que a deficiência de cobalamina conduz à deficiência das formas de tetra-hidrofolato necessárias para a síntese de purinas e de TMP, resultando nos sintomas de anemia megaloblástica.

D. Indicações clínicas de vitamina B₁₂

Ao contrário de outras vitaminas hidrossolúveis, quantidades significativas (4 a 5 mg) de vitamina B₁₂ são armazenadas no organismo. Como resultado, podem ser necessários vários anos para o desenvolvimento de sintomas clínicos de deficiência de B₁₂ nos indivíduos que tenham sofrido gastrectomia total ou parcial (que, portanto, tornaram-se deficientes no fator intrínseco, veja a p. 377) e não conseguem mais absorver a vitamina.

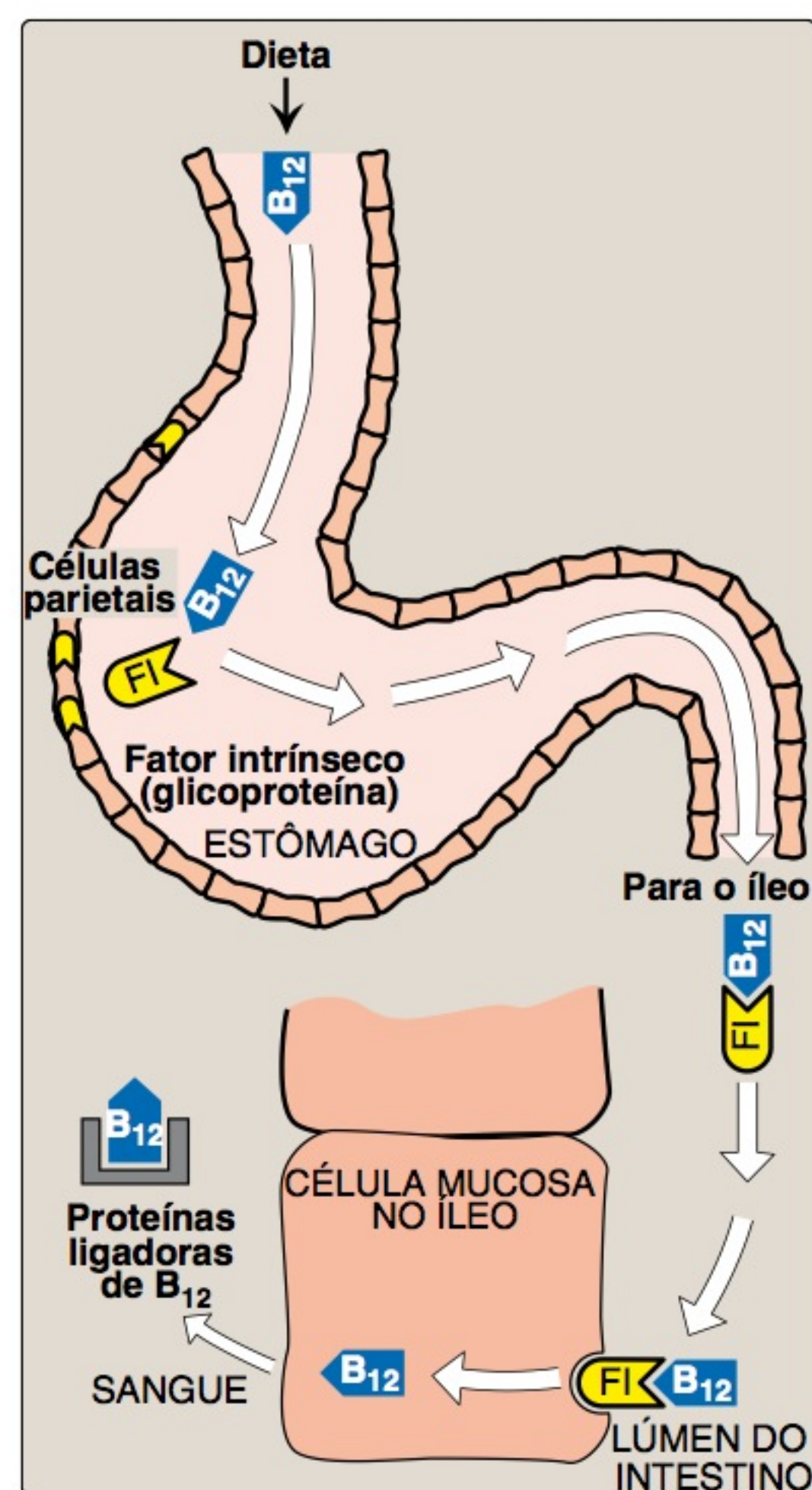


Figura 28.7

Absorção da vitamina B₁₂. FI = fator intrínseco.

1. **Anemia perniciosa.** A deficiência de vitamina B₁₂ raramente resulta da ausência da vitamina na dieta. É muito mais comum encontrar deficiência em pacientes com falhas na absorção da vitamina pelo intestino. A má absorção de cobalamina em idosos é frequentemente devida à reduzida secreção de ácido gástrico e menor absorção da vitamina B₁₂ da dieta. Uma má absorção grave de vitamina B₁₂ leva à anemia perniciosa. Na maioria dos casos, essa doença resulta da destruição autoimune das células gástricas parietais, que são responsáveis pela síntese de uma glicoproteína chamada fator intrínseco. Normalmente, a vitamina B₁₂ obtida da dieta liga-se ao fator intrínseco no intestino (Figura 28.7). O complexo fator intrínseco-cobalamina passa pelo intestino e por fim liga-se a receptores específicos na superfície das células mucosas do íleo. A cobalamina ligada é transportada para dentro das células mucosas e, posteriormente, à circulação geral, onde é transportada por proteínas de ligação de B₁₂. A falta do fator intrínseco impede a absorção da vitamina B₁₂, resultando na anemia perniciosa. Pacientes com deficiência de cobalamina frequentemente são anêmicos, porém, com o desenvolvimento da doença, apresentam sintomas neuropsiquiátricos. Entretanto, sintomas do sistema nervoso central (SNC) podem ocorrer na ausência da anemia. Os efeitos sobre o SNC são irreversíveis e ocorrem por mecanismos que parecem ser diferentes daqueles descritos para a anemia megaloblástica. Essa doença é tratada pela administração oral de altas doses de B₁₂ ou injeção intramuscular (IM) de cianocobalamina. A terapia deve continuar por toda a vida em pacientes com anemia perniciosa. A deficiência de vitamina B₁₂ pode ser medida pelos níveis de ácido metilmalônico no sangue, o qual está elevado em indivíduos com baixo consumo ou absorção diminuída da vitamina.



O ácido fólico pode reverter parcialmente as anormalidades hematológicas da deficiência de B₁₂ e mascarar a deficiência de cobalamina. Portanto, a terapia da anemia megaloblástica é frequentemente iniciada com ácido fólico e vitamina B₁₂ até a causa da anemia ser determinada.

IV. ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)

A forma ativa da vitamina C é o ácido ascórbico (Figura 28.8). A principal função do ascorbato é a de agente redutor em diversas reações diferentes. A vitamina C tem um papel bem-documentado como coenzima nas reações de hidroxilação, como por exemplo na hidroxilação dos resíduos prolil- e lisil- do colágeno (veja a p. 47). A vitamina C é, dessa forma, necessária para a manutenção do tecido conjuntivo normal, bem como para recompor tecidos danificados. A vitamina C também facilita a absorção intestinal do ferro da dieta.

A. Deficiência de ácido ascórbico

A deficiência de ácido ascórbico resulta no escorbuto, doença caracterizada por gengivas doloridas e esponjosas, dentes frouxos, fragilidade dos vasos sanguíneos, edemas nas articulações e anemia (Figura 28.9). Muitos dos sintomas da deficiência podem ser explicados por deficiência na hidroxilação do colágeno, resultando em tecido conjuntivo defeituoso.

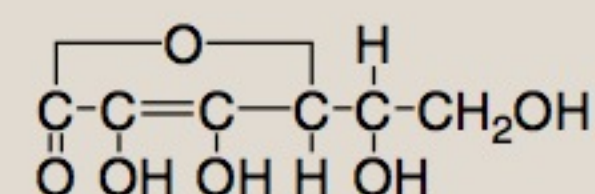


Figura 28.8

Estrutura do ácido ascórbico.



Figura 28.9

Gengivas hemorrágicas e inchadas em um paciente com escorbuto.

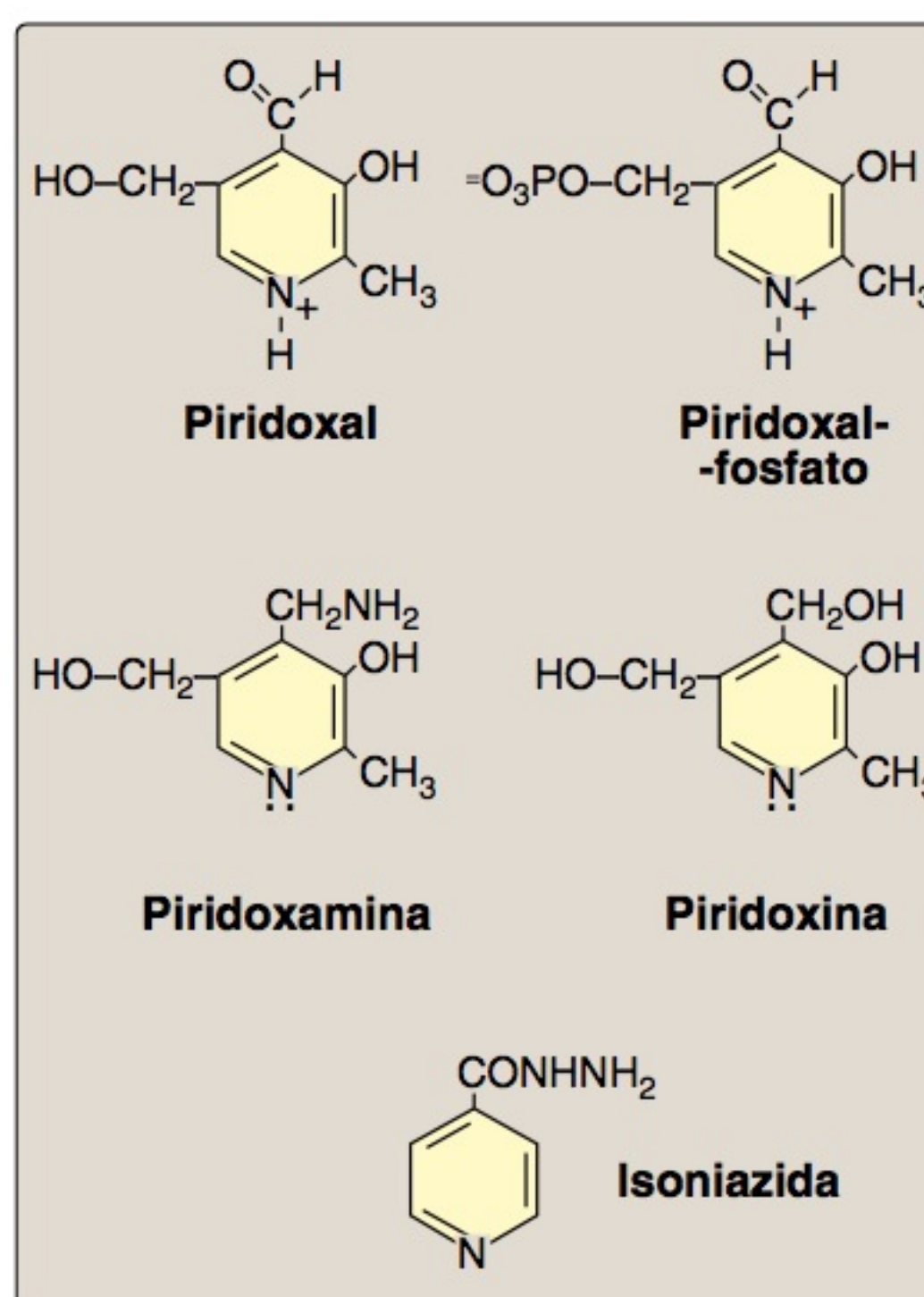
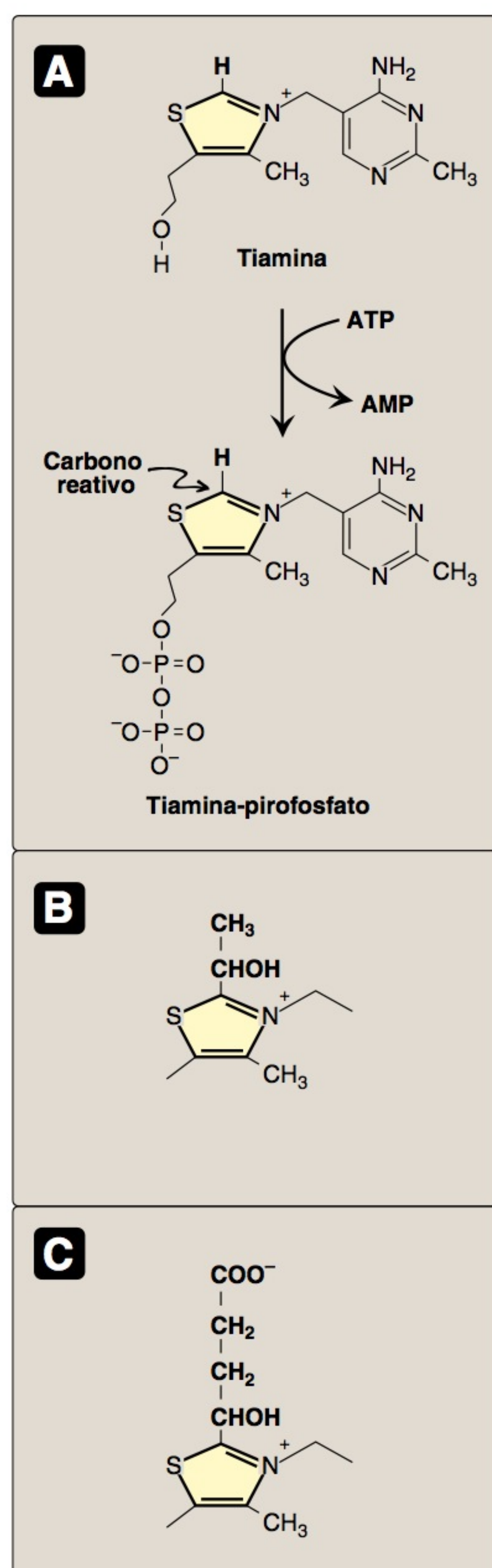


Figura 28.10

Estruturas da vitamina B₆ e do fármaco isoniazida, utilizado contra a tuberculose.

**Figura 28.11**

A. Estrutura da tiamina e sua forma de coenzima, a tiamina-pirofosfato. B. Estrutura do intermediário formado na reação catalisada pela *piruvato-desidrogenase*. C. Estrutura de intermediário formado na reação catalisada pela α -cetoglutarato-desidrogenase.

B. Prevenção de doença crônica

A vitamina C é um nutriente do grupo que inclui a vitamina E (veja a p. 391) e o β -caroteno (veja a p. 382), conhecidos por sua função antioxidante. O consumo de dietas ricas nesses compostos está associado à diminuição na incidência de algumas doenças crônicas, como doença cardíaca coronariana e alguns tipos de câncer. No entanto, testes clínicos envolvendo a suplementação com antioxidantes isolados têm falhado na determinação de qualquer efeito benéfico convincente.

V. PIRIDOXINA (VITAMINA B₆)

Vitamina B₆ é um termo coletivo para piridoxina, piridoxal e piridoxamina, todos derivados da piridina. Diferem apenas quanto à natureza do grupo funcional ligado ao anel (Figura 28.10). A piridoxina ocorre principalmente nas plantas, ao passo que o piridoxal e a piridoxamina são encontrados em alimentos de origem animal. Todos os três compostos podem servir como precursores da coenzima biologicamente ativa, o piridoxal-fosfato. O piridoxal-fosfato funciona como coenzima para um grande número de enzimas, particularmente aquelas que catalisam reações envolvendo aminoácidos.

Tipo de reação	Exemplo
Transaminação	Oxalacetato + glutamato $\rightleftharpoons$ aspartato + α -cetoglutarato
Desaminação	Serina $\rightarrow$ piruvato + NH ₃
Descarboxilação	Histidina $\rightarrow$ histamina + CO ₂
Condensação	Glicina + succinil-CoA $\rightarrow$ ácido δ -aminolevulínico

A. Indicações clínicas de piridoxina

A isoniazida (hidrazida do ácido isonicotínico), um fármaco frequentemente usado para o tratamento da tuberculose, pode induzir deficiência de vitamina B₆ pela formação de um derivado inativo com o piridoxal-fosfato. A suplementação de B₆ na dieta é, assim, um adjuvante para o tratamento com isoniazida. Por outro lado, deficiências de piridoxina na dieta são raras, mas têm sido observadas em recém-nascidos alimentados com leite em pó com baixos níveis de B₆, em mulheres que fazem uso de contraceptivos orais e em alcoolistas.

B. Toxicidade da piridoxina

A piridoxina é a única vitamina hidrossolúvel com toxicidade significativa. Sintomas neurológicos (neuropatia sensorial) têm sido observados com ingestão superior a 200 mg/dia, uma quantidade 100 vezes maior do que a quantidade diária recomendada (QDR). Uma melhora substancial, mas não a recuperação completa, ocorre quando a vitamina é suspensa.

VI. TIAMINA (VITAMINA B₁)

O pirofosfato de tiamina é a forma biologicamente ativa dessa vitamina, formada pela transferência do grupo pirofosfato do trifosfato de adenosina (ATP) para a tiamina (Figura 28.11). O pirofosfato de tiamina serve como coenzima na formação ou na degradação de α -cetóis pela *transcetolase* (Figura 28.12A) e na descarboxilação oxidativa dos α -cetoácidos (Figura 28.12B).

A. Indicações clínicas para a tiamina

A descarboxilação oxidativa do piruvato e do α -cetoglutarato, que desempenham papel-chave no metabolismo energético da maioria das células, é especialmente importante em tecidos do sistema nervoso. Na deficiência da tiamina, a atividade dessas duas reações de *desidrogenases* é diminuída, resultando na diminuição da produção de ATP e, dessa forma, em prejuízo na função celular. (Nota: a deficiência de tiamina é diagnosticada pelo aumento na atividade da *transcetolase* em eritrócitos, observado após a adição de pirofosfato de tiamina.)

1. **Beribéri.** Essa é uma grave síndrome de deficiência de tiamina, observada em áreas onde o arroz polido é o principal componente da dieta. Os sinais de beribéri em bebês incluem taquicardia, vômito, convulsões e, se não for tratada, morte. A síndrome da deficiência pode ter rápido início em lactentes cujas mães são deficientes em tiamina. O beribéri em adultos é caracterizado por pele seca, irritabilidade, pensamento desordenado e paralisia progressiva.
2. **Síndrome de Wernicke-Korsakoff.** Nos Estados Unidos, a deficiência de tiamina, que é encontrada principalmente em associação a alcoolismo crônico, é devida à insuficiência dietética ou à diminuição na absorção intestinal da vitamina. Alguns alcoolistas desenvolvem síndrome de Wernicke-Korsakoff – um estado de deficiência de tiamina caracterizado por apatia, perda de memória, ataxia e movimentos rítmicos dos globos oculares (nistagmo). As consequências neurológicas da síndrome de Wernicke são tratadas com suplementação de tiamina.

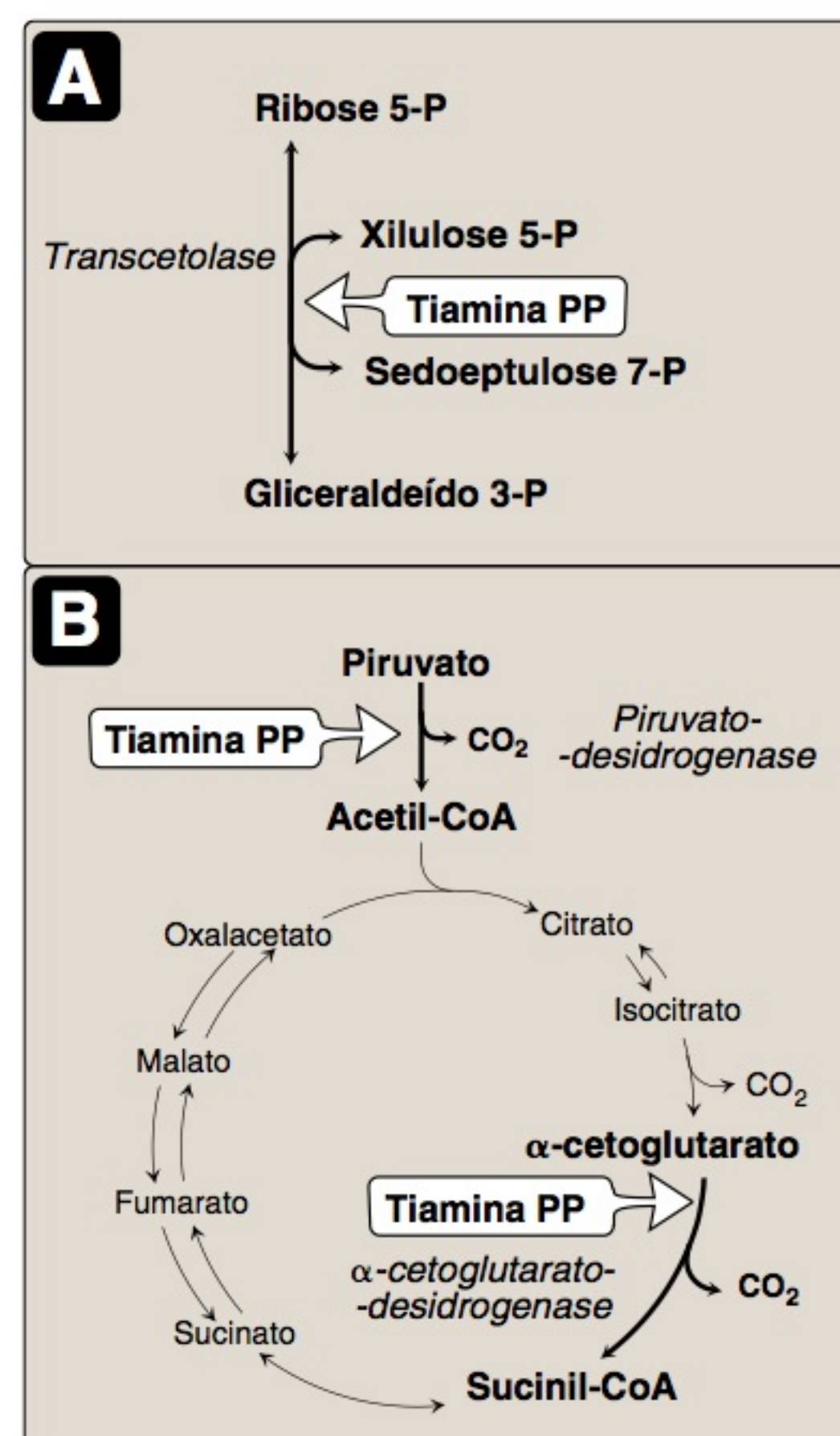


Figura 28.12

Reações que utilizam pirofosfato de tiamina (TPP) como coenzima. A. *Transcetolase*. B. *Piruvato-desidrogenase* e *α-cetoglutarato-desidrogenase*. Observe que o TPP também é utilizado pela desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada.

VII. NIACINA

Niacina, ou ácido nicotínico, é um derivado substituído da piridina. As formas biologicamente ativas da coenzima são nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD⁺) e seu derivado fosforilado, nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato

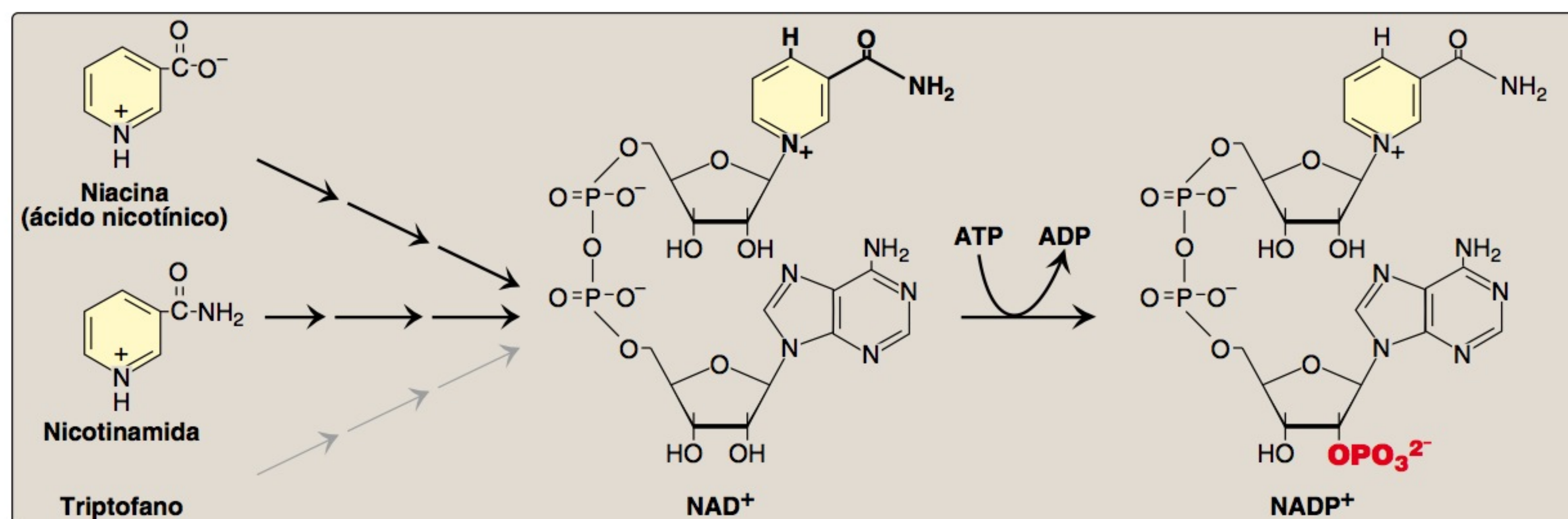


Figura 28.13

Estrutura e biossíntese do NAD⁺ e do NADP⁺. Observe que um metabólito do triptofano (quinolinato) também pode ser utilizado na síntese de NAD⁺.

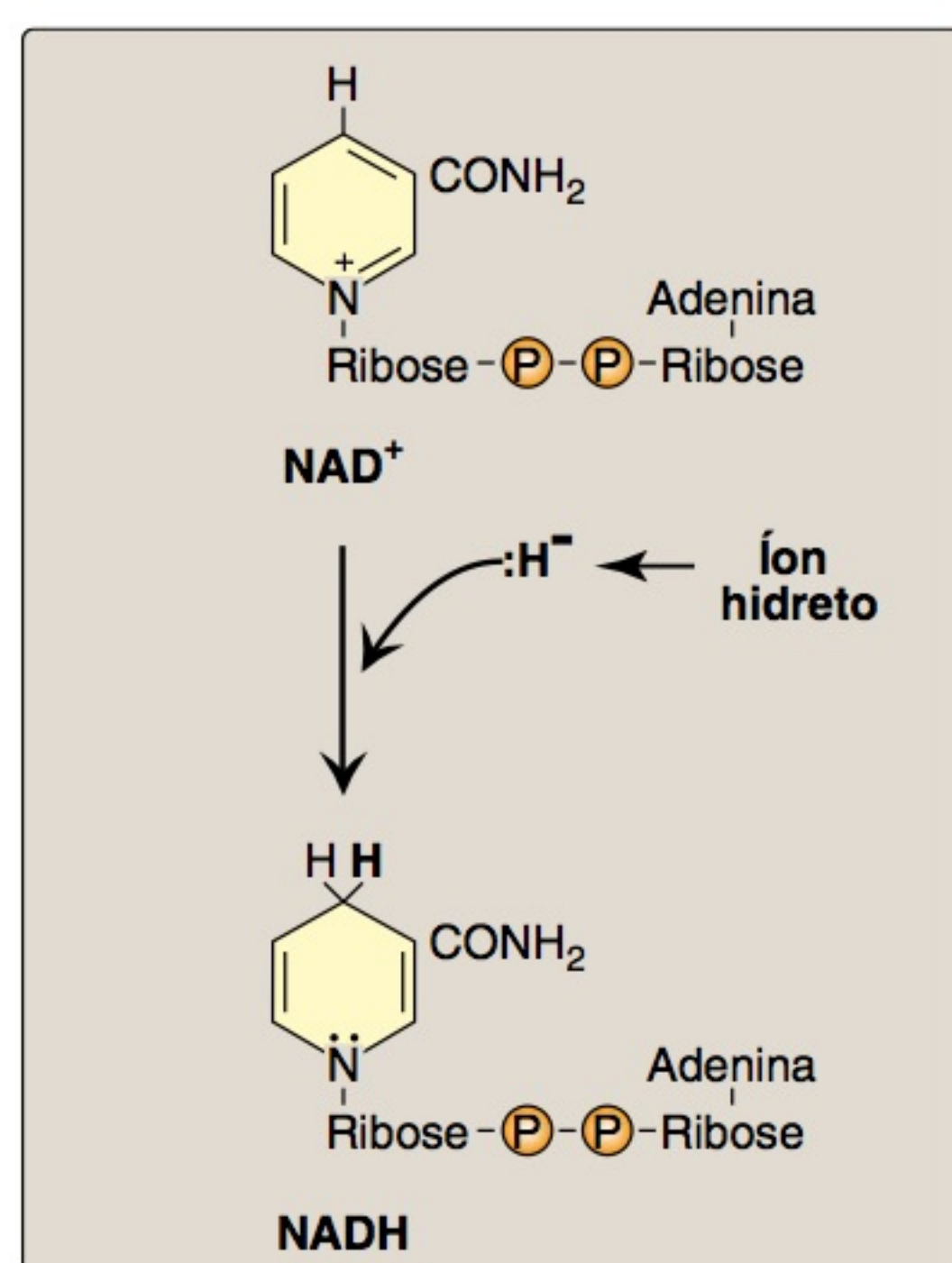


Figura 28.14
Redução de NAD^+ a NADH .

(NADP^+ ; Figura 28.13). A nicotinamida, um derivado do ácido nicotínico que contém uma amida substituindo um grupo carboxila, também ocorre na dieta. A nicotinamida é rapidamente desaminada no organismo e, dessa forma, é nutricionalmente equivalente ao ácido nicotínico. O NAD^+ e o NADP^+ servem como coenzimas em reações de oxidação-redução em que a coenzima sofre redução do anel piridina, pela incorporação de um íon hidreto (átomo de hidrogênio mais um elétron; Figura 28.14). As formas reduzidas do NAD^+ e do NADP^+ são NADH e NADPH , respectivamente.

A. Distribuição da niacina

A niacina é encontrada em grãos enriquecidos e não refinados, em cereais, no leite e em carnes magras, especialmente fígado. (Nota: o milho é pobre em niacina e triptofano. Dietas baseadas em milho podem causar pelagra [veja abaixo].)

B. Indicações clínicas para a niacina

1. **Deficiência de niacina.** A deficiência de niacina causa pelagra, uma doença envolvendo a pele, o trato gastrointestinal e o SNC. Os sintomas da evolução da pelagra compreendem três Ds: dermatite, diarreia, demência e, se não tratada, morte.
2. **Tratamento da hiperlipidemia.** A niacina (em doses de 1,5 g/dia, ou 100 vezes a quantidade diária recomendada [QDR]) inibe fortemente a lipólise no tecido adiposo – o produtor primário dos ácidos graxos livres na circulação. O fígado normalmente utiliza esses ácidos graxos circulantes como precursores para a síntese de triacilgliceróis. Assim, a niacina causa diminuição da síntese hepática de triacilgliceróis, necessários para a produção da lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL, veja a p. 231). A lipoproteína de baixa densidade (LDL, a lipoproteína rica em colesterol) é derivada da VLDL no plasma. Assim, são diminuídos no plasma tanto o triacilglicerol (na VLDL) como o colesterol (na VLDL e na LDL). Dessa forma, a niacina é especialmente útil no tratamento da hiperlipoproteïnemia do tipo IIb, na qual VLDL e LDL estão elevadas. (Nota: a niacina aumenta os níveis de HDL.)

VIII. RIBOFLAVINA (VITAMINA B_2)

As duas formas biologicamente ativas são flavina mononucleotídeo (FMN) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD), formadas pela transferência da porção

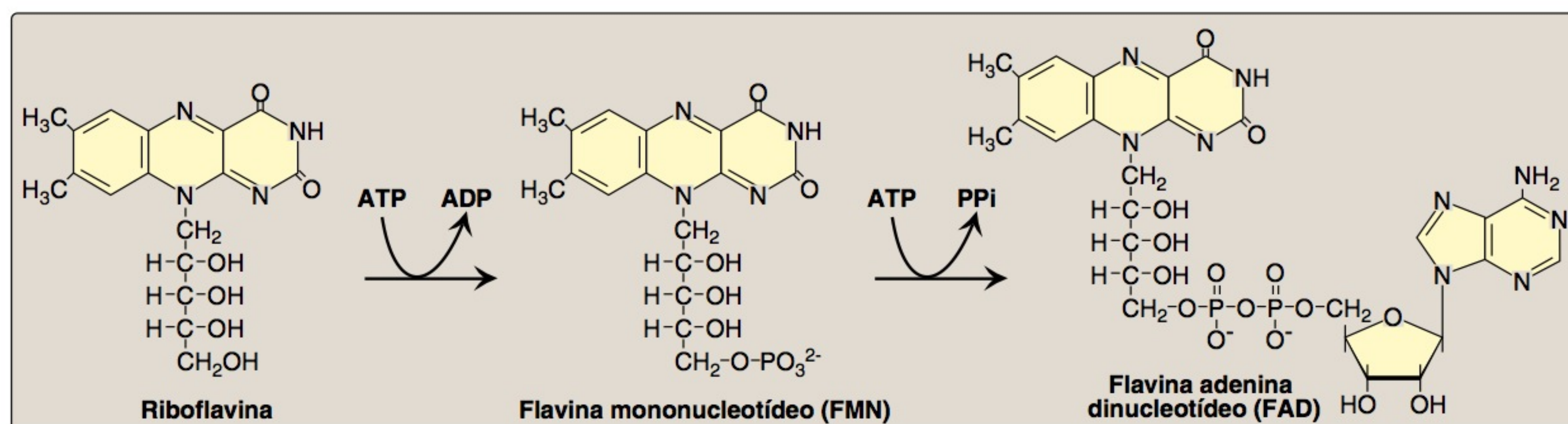


Figura 28.15
Estrutura e biossíntese de flavina mononucleotídeo e de flavina adenina dinucleotídeo.

monofosfato de adenosina do ATP para o FMN (Figura 28.15). A FMN e a FAD são capazes de aceitar reversivelmente dois átomos de hidrogênio, formando FMNH₂ ou FADH₂. A FMN e a FAD encontram-se fortemente ligadas – algumas vezes covalentemente – a flavoenzimas que catalisam a oxidação ou a redução de um substrato. A deficiência de riboflavina não está associada a qualquer doença humana importante, embora frequentemente acompanhe deficiências de outras vitaminas. Os sintomas da deficiência incluem dermatite, queilose (fissuras nos cantos da boca) e glossite (a língua fica com aparência lisa e púrpura).

IX. BIOTINA

A biotina é uma coenzima nas reações de carboxilação, em que serve como carreadora do dióxido de carbono ativado (veja na Figura 10.3, p. 119, o mecanismo das carboxilações dependentes de biotina). A biotina liga-se covalentemente ao grupo ε-amino de resíduos de lisina nas enzimas dependentes de biotina (Figura 28.16). A deficiência de biotina não ocorre naturalmente, porque a vitamina está amplamente distribuída nos alimentos. Além disso, uma grande porcentagem da biotina necessária para os humanos é suprida por bactérias intestinais. Entretanto, a adição de claras de ovos cruas à dieta como fonte de proteína induz sintomas de deficiência de biotina, isto é, dermatite, glossite, perda de apetite e náusea. A clara de ovo crua contém uma glicoproteína, a avidina, que se liga fortemente à biotina e impede a sua absorção pelo intestino. No entanto, com uma dieta normal, estima-se que seriam necessários 20 ovos por dia para induzir uma síndrome de deficiência. Assim, a inclusão ocasional de um ovo cru à dieta não leva à deficiência de biotina, embora a ingestão de ovos crus geralmente não seja recomendada devido à possibilidade de infecção por salmonela.



A deficiência múltipla de atividades de *carboxilases* resulta de um defeito na capacidade de ligar biotina a essas enzimas ou de removê-la das enzimas durante sua degradação. O tratamento é suplementação com biotina.

X. ÁCIDO PANTOTÊNICO

O ácido pantotênico é um componente da coenzima A (CoA) que atua na transferência de grupos acila (Figura 28.17). A coenzima A contém um grupo tiol que transporta os compostos acila, como ésteres de tiol ativados. Exemplos de tais estruturas são succinil-CoA, acil-CoA graxo e acetil-CoA. O ácido pantotênico é também um componente de um domínio proteína carreadora de acila (PCA) da *sintetase dos ácidos graxos* (veja a p. 184). Os ovos, o fígado e as leveduras são as fontes mais importantes de ácido pantotênico, embora esta vitamina seja amplamente distribuída. A deficiência de ácido pantotênico não está bem caracterizada em humanos, e não existe uma QDR estabelecida.

XI. VITAMINA A

Os retinoides, uma família de moléculas relacionadas ao retinol (vitamina A), são essenciais para a visão, a reprodução, o crescimento e a manutenção dos tecidos epiteliais. O ácido retinoico, derivado da oxidação do retinol da dieta, medeia a maioria das ações dos retinoides, exceto para a visão, que depende do retinal, o derivado aldeídico do retinol.

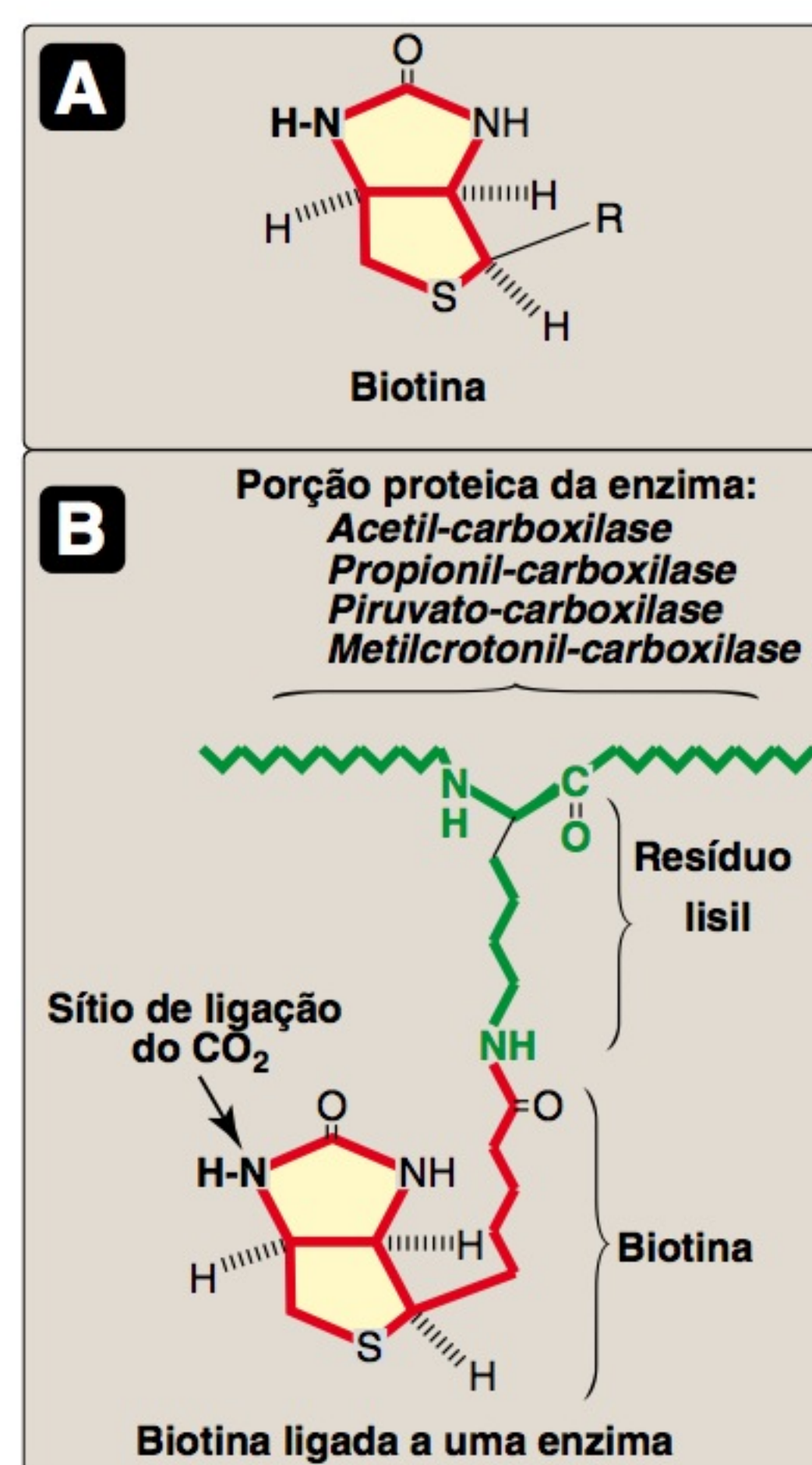


Figura 28.16

A. Estrutura da biotina. B. Biotina, ligada covalentemente a um resíduo de lisina de uma enzima dependente de biotina.

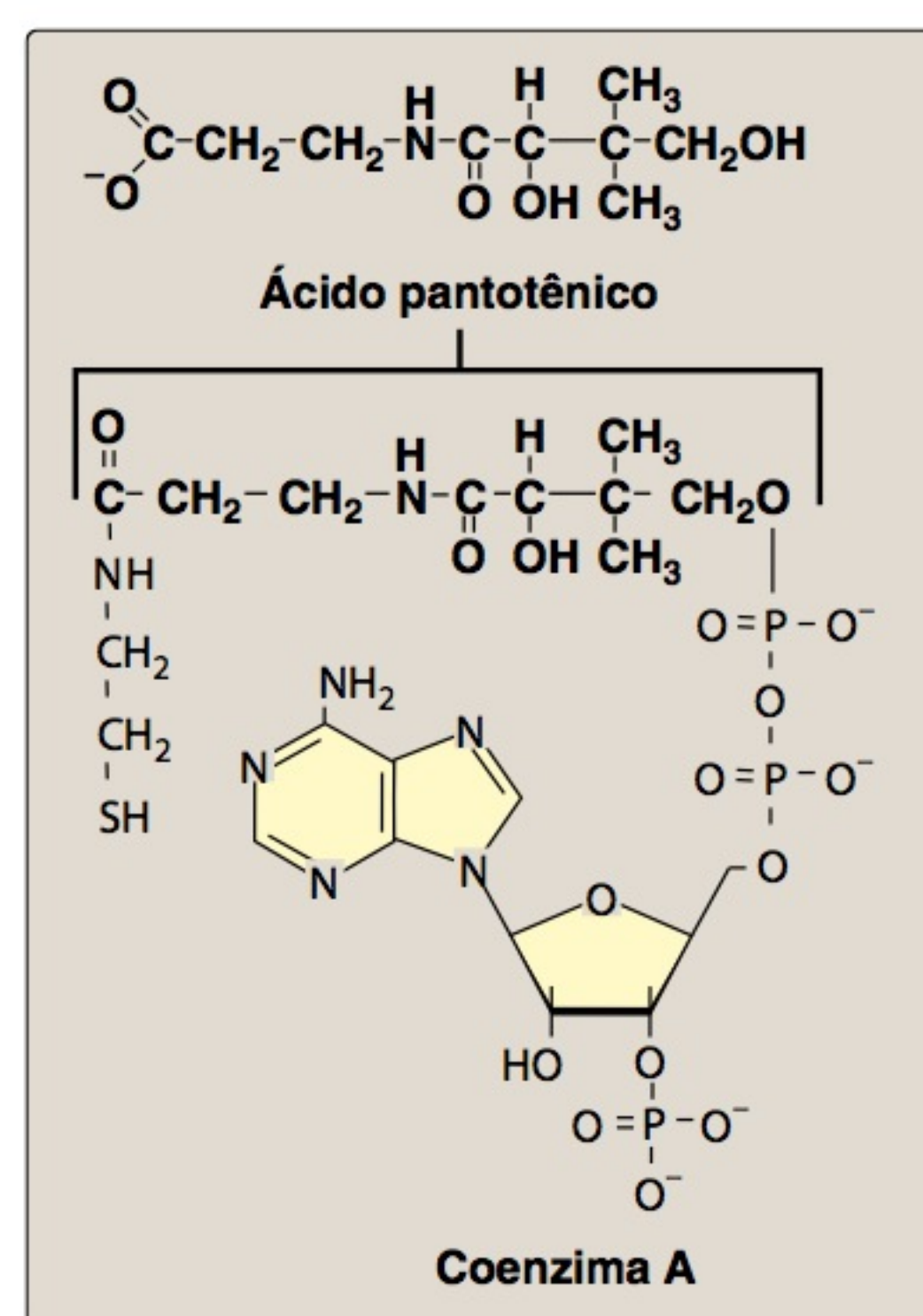
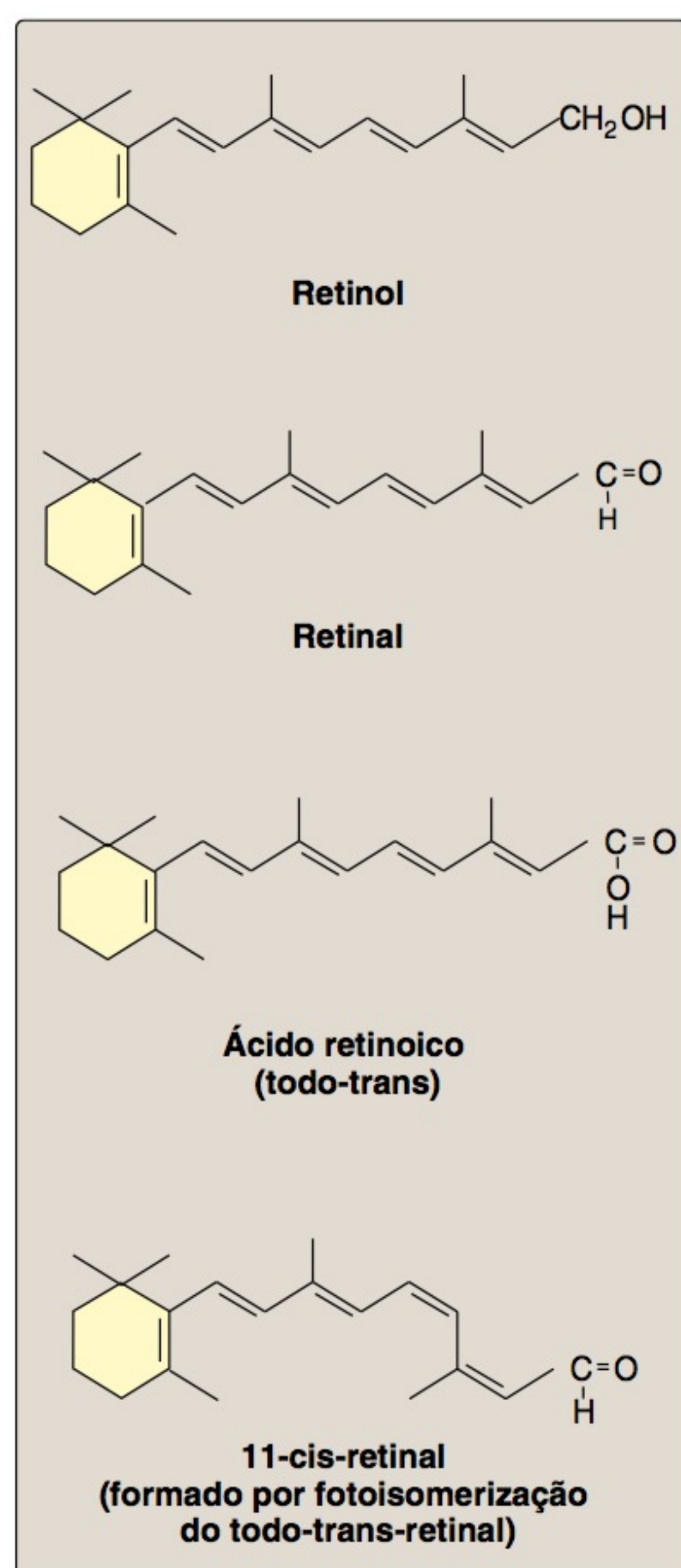


Figura 28.17

Estrutura da coenzima A.

**Figura 28.18**

Estrutura dos retinoides.

A. Estrutura da vitamina A

Vitamina A é um termo frequentemente usado como coletivo para várias moléculas biologicamente ativas relacionadas (Figura 28.18). O termo retinoides inclui as formas naturais e sintéticas da vitamina A, as quais podem ou não ter atividade de vitamina A.

1. **Retinol.** Álcool primário que contém um anel β-ionona com cadeia lateral insaturada, o retinol é encontrado em tecidos animais como um éster retinila com ácidos graxos de cadeia longa.
2. **Retinal.** É o aldeído derivado da oxidação do retinol. O retinal e o retinol podem ser facilmente interconvertidos.
3. **Ácido retinoico.** É o ácido derivado da oxidação do retinal. O ácido retinoico não pode ser reduzido no organismo e, assim, não pode originar retinal ou retinol.
4. **β-Caroteno.** Alimentos de origem vegetal contêm β-caroteno, que pode ser clivado oxidativamente no intestino em duas moléculas de retinal. Em humanos, a conversão é ineficiente, e a atividade de vitamina A do β-caroteno é bem menor (cerca de doze vezes) que aquela do retinol.

B. Absorção e transporte da vitamina A

1. **Transporte para o fígado.** Os ésteres de retinol presentes na dieta são hidrolisados na mucosa intestinal, liberando retinol e ácidos graxos livres (Figura 28.19). O retinol derivado dos ésteres e da clivagem e redução de carotenos é novamente esterificado a ácidos graxos de cadeia longa na mucosa do intestino e secretado como componente dos quilomicra no sistema linfático (veja a Figura 28.19). Os ésteres de retinila contidos nos quilomicra remanescentes são captados pelo fígado e nele armazenados.
2. **Liberação a partir do fígado.** Quando necessário, o retinol é liberado do fígado e transportado para os tecidos extra-hepáticos por uma proteína plasmática, a proteína ligadora de retinol (PLR). O complexo PLR-retinol liga-se a receptores específicos na superfície das células dos tecidos periféricos, permitindo a entrada do retinol. Muitos tecidos possuem uma proteína celular ligadora de retinol que transporta o retinol para sítios no núcleo onde a vitamina atua de maneira análoga aos hormônios esteroides.

C. Mecanismo de ação da vitamina A

O retinol é oxidado a ácido retinoico. O ácido retinoico liga-se com alta afinidade a proteínas receptoras específicas, no núcleo de células-alvo, como as células epiteliais (Figura 28.20). O complexo ativado receptor-ácido retinoico interage com a cromatina nuclear, regulando a síntese de RNA retinoide-específico, resultando no controle da produção de proteínas específicas que medeiam várias funções fisiológicas. Por exemplo, os retinoides controlam a expressão do gene da queratina na maior parte dos tecidos epiteliais do corpo. As proteínas receptoras específicas do ácido retinoico são parte da superfamília dos reguladores transcricionais, que incluem os hormônios esteroides e da tireoide e o 1,25-di-hidroxico-lecalciferol, que funcionam de maneira similar (veja a p. 240).

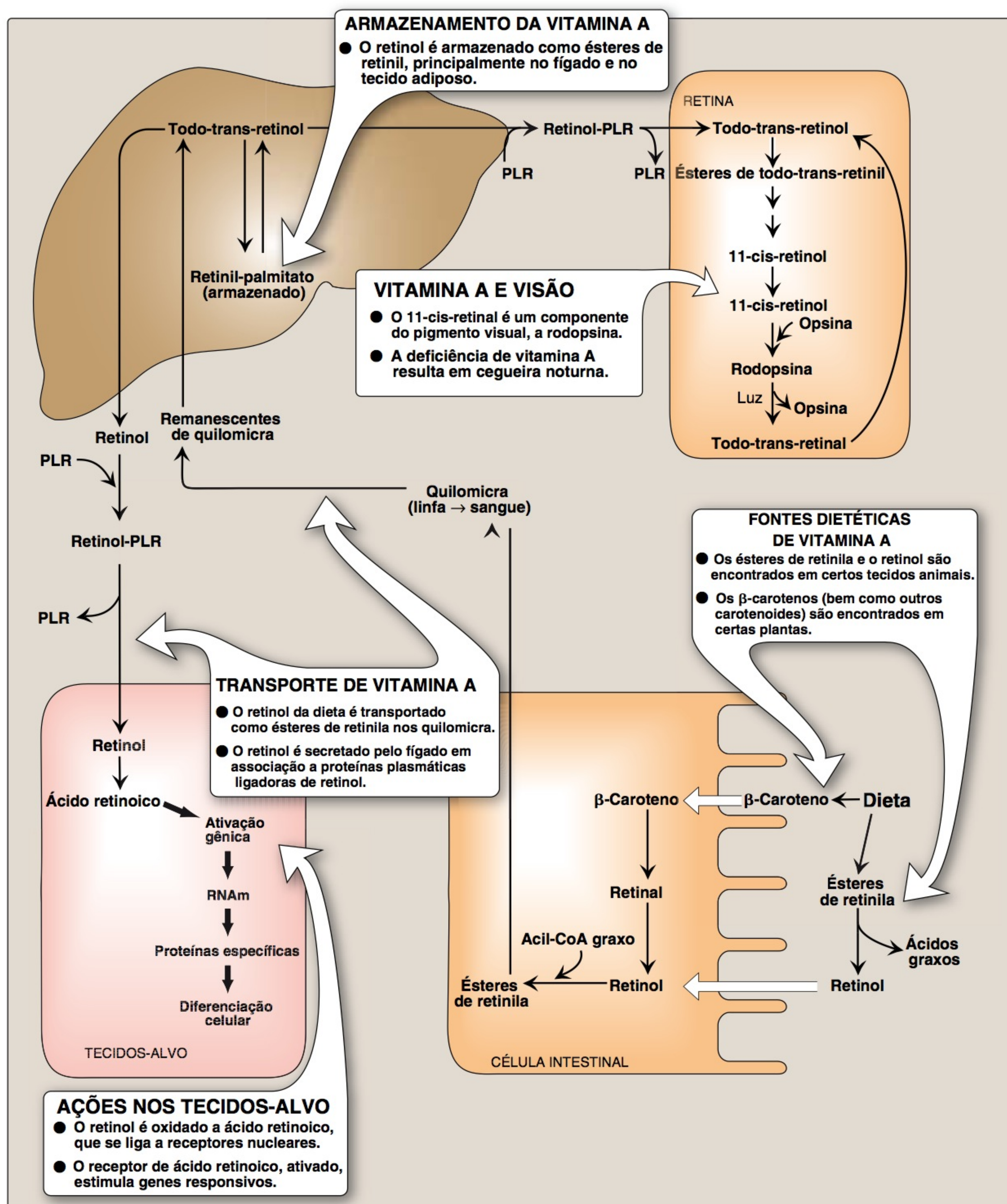
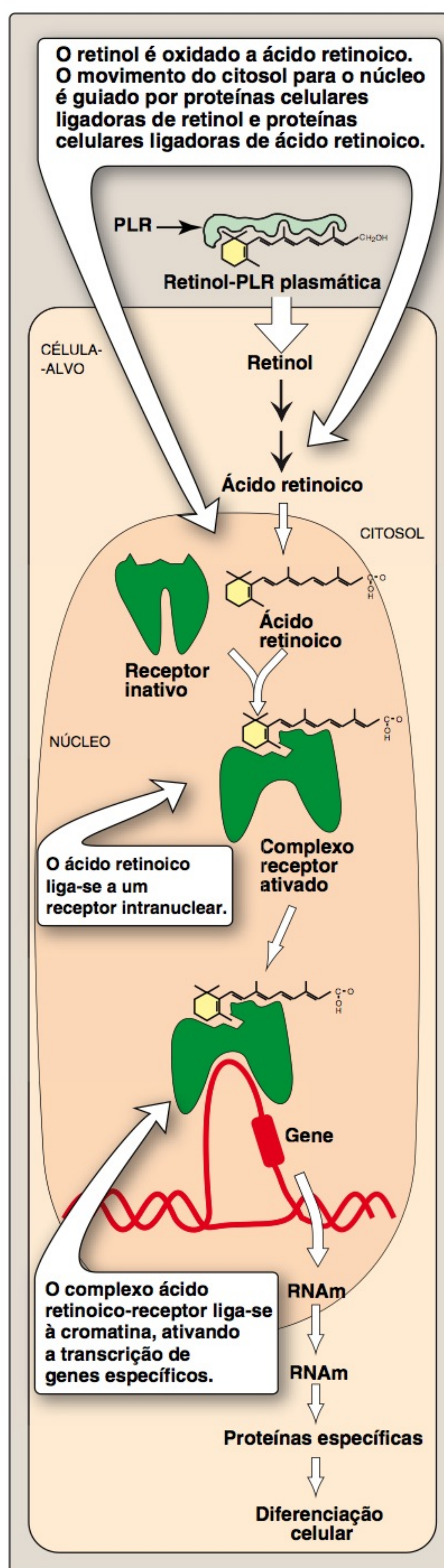


Figura 28.19

Absorção, transporte e armazenamento da vitamina A e de seus derivados. PLR = Proteína ligadora de retinol.

**Figura 28.20**

Ação dos retinoides. Nota: O complexo ácido retinoico-receptor é um dímero, mas é mostrado como monômero para simplificar. (PLR = proteína ligadora de retinol.)

D. Funções da vitamina A

- 1. Ciclo visual.** A vitamina A é componente dos pigmentos visuais das células cones e bastonetes. A rodopsina, o pigmento visual dos bastonetes na retina, consiste em 11-cis-retinal ligado especificamente à proteína opsina. Quando a rodopsina é exposta à luz, ocorre uma série de isomerizações fotoquímicas, as quais resultam no desbotamento do pigmento visual e na liberação de retinal todo-trans e opsina. Esse processo origina um impulso nervoso, que é transmitido pelo nervo óptico para o cérebro. A regeneração da rodopsina necessita da isomerização do todo-trans-retinal, formando novamente o 11-cis-retinal. O todo-trans-retinal, após ser liberado da rodopsina, é reduzido a todo-trans-retinol, esterificado, isomerizado a 11-cis-retinol, que é oxidado a 11-cis-retinal. O último combina-se com a opsina, para formar a rodopsina, completando o ciclo. Reações similares são responsáveis pela visão de cores nos cones.
- 2. Crescimento.** A deficiência de vitamina A resulta em uma diminuição na taxa de crescimento em crianças. O desenvolvimento ósseo também é mais lento.
- 3. Reprodução.** O retinol e o retinal são essenciais para a reprodução normal, mantendo a espermatogênese nos machos e prevenindo a reabsorção fetal nas fêmeas. O ácido retinoico é inativo na manutenção da reprodução e no ciclo visual, mas promove o crescimento e a diferenciação das células epiteliais; assim, animais que recebem vitamina A somente como ácido retinoico desde o nascimento são cegos e estéreis.
- 4. Manutenção das células epiteliais.** A vitamina A é essencial para a diferenciação normal dos tecidos epiteliais e para a secreção normal de muco.

E. Distribuição da vitamina A

Fígado, rim, nata, manteiga e gema de ovo são boas fontes de vitamina A pré-formada. Frutas e vegetais amarelos e verde-escuros são boas fontes dietéticas de carotenos, que servem como precursores da vitamina A.

F. Necessidade de vitamina A

A QDR para adultos é 900 equivalentes de atividade de retinol (ER) para indivíduos do sexo masculino e 700 ER para indivíduos do sexo feminino. A título de comparação: um ER = 1 mg de retinol, 12 mg de β-caroteno ou 24 mg de outros carotenoides.

G. Indicações clínicas

Embora relacionados quimicamente, o ácido retinoico e o retinol apresentam aplicações terapêuticas bastante distintas. O retinol e seus precursores são utilizados como suplementos dietéticos, ao passo que várias formas do ácido retinoico são usadas na dermatologia.

- 1. Deficiência dietética.** A vitamina A, administrada como retinol ou ésteres de retinila, é utilizada para o tratamento de pacientes deficientes nessa vitamina (Figura 28.21). A cegueira noturna é um dos primeiros sinais de deficiência em vitamina A. O limiar visual aumenta, dificultando a visão em ambientes com pouca luminosidade. A deficiência prolongada leva à perda irreversível do número de células visuais. A deficiência grave de vitamina A leva à xeroftalmia,

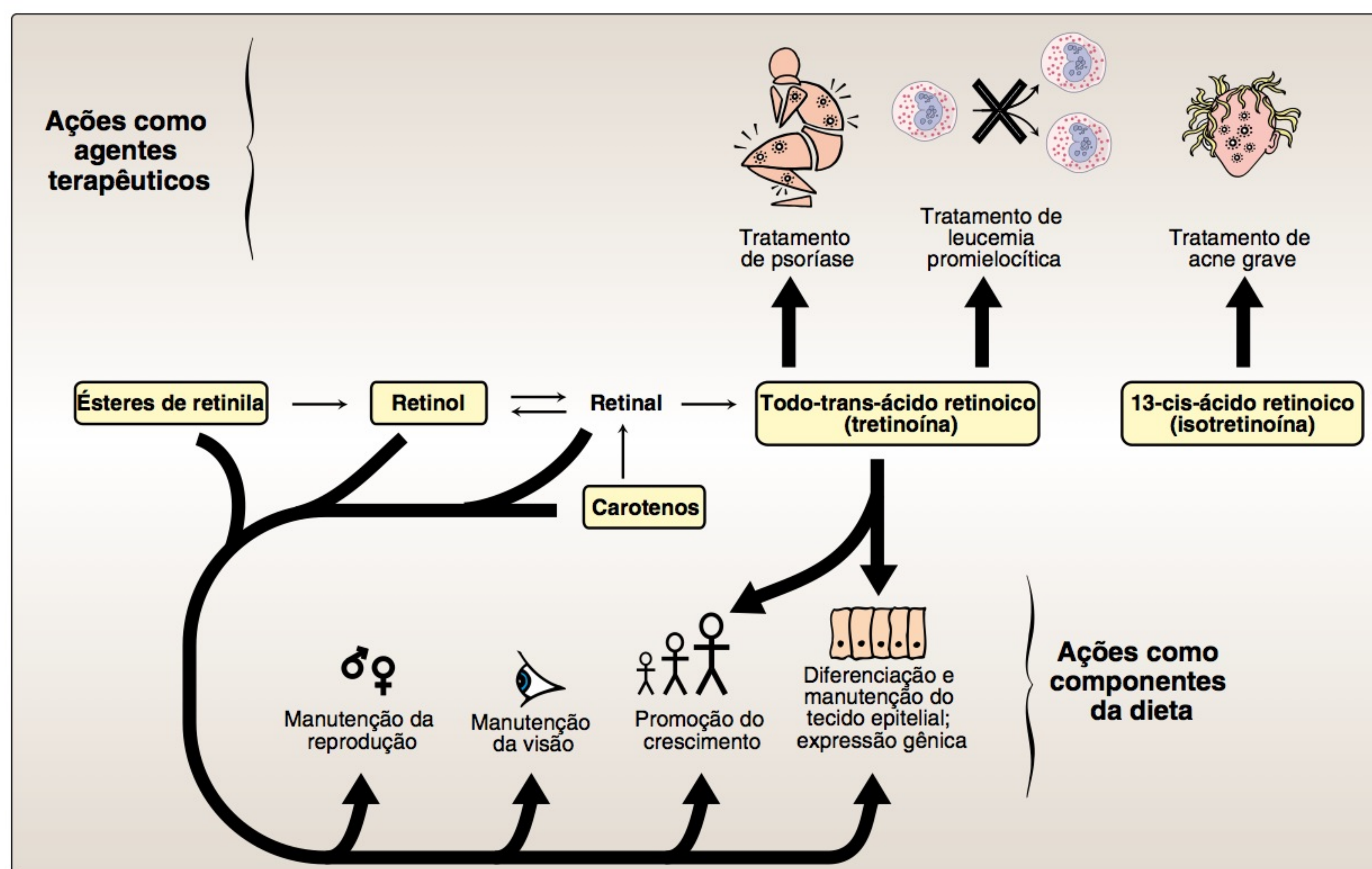


Figura 28.21

Resumo das ações dos retinoides. Os compostos nos quadros estão disponíveis como componentes dietéticos ou como agentes farmacológicos.

o ressecamento patológico da conjuntiva e da córnea. Se não for tratada, a xeroftalmia resulta em ulceração da córnea e, por fim, cegueira, devido à formação de tecido de cicatrização opaco. Essa condição é mais frequentemente observada em crianças de países tropicais em desenvolvimento. Mais de 500.000 crianças no mundo todo se tornam cegas, a cada ano, devido à xeroftalmia causada por deficiência de vitamina A na dieta.

- 2. Acne e psoríase.** Problemas dermatológicos, como acne e psoríase, são tratados efetivamente com ácido retinoico ou seus derivados (veja a Figura 28.21). Casos menos graves de acne, doença de Darier (ceratose folicular) e envelhecimento da pele são tratados com aplicação tópica de tretinoína (todo-trans-ácido retinoico), bem como peróxido de benzoíla e antibióticos. (Nota: a tretinoína é muito tóxica para administração sistêmica e seu uso se restringe à aplicação tópica.) Em pacientes com acne cística recalcitrante grave que não responde às terapias convencionais, o fármaco de escolha é a isotretinoína (13-cis-ácido retinoico) administrada oralmente. O ácido retinoico é também utilizado no tratamento da leucemia promielocítica.

H. Toxicidade dos retinoides

- 1. Vitamina A.** Ingestão excessiva de vitamina A produz uma síndrome tóxica denominada hipervitaminose A. Quantidades que excedam 7,5 mg/dia de retinol devem ser evitadas. Os sinais iniciais de hipervitaminose A crônica refletem-se na pele, que torna-se seca e prurítica

(devido a uma diminuição da síntese de queratina), no fígado, que apresenta aumento e pode tornar-se cirrótico, e no sistema nervoso, onde um aumento da pressão intracraniana pode mimetizar sintomas de tumor encefálico. Gestantes, especialmente, não devem ingerir quantidades excessivas de vitamina A, em função da potencial possibilidade de má formação congênitas no feto em desenvolvimento.

2. **Isotretinoína.** O fármaco é teratogênico e absolutamente contraindicado para mulheres que potencialmente possam engravidar, a não ser que apresentem acne cística desfigurante e grave e que não responda às terapias convencionais. A gestação deve ser excluída antes de iniciar o tratamento, e um controle contraceptivo adequado deve ser utilizado. Tratamento prolongado com isotretinoína leva à hiperlipidemia e a um aumento na relação LDL/HDL, o que pode ser preocupante em função de um risco aumentado de doença cardiovascular.

XII. VITAMINA D

As vitaminas D são um grupo de esteroides que apresentam funções similares às dos hormônios. A molécula ativa, 1,25-di-hidroxicolecalciferol (1,25-diOH-D₃), liga-se a proteínas receptoras intracelulares. O complexo 1,25-diOH-D₃-receptor interage com o DNA no núcleo de células-alvo de modo semelhante à vitamina A (veja a Figura 28.20) e estimula seletivamente a expressão gênica ou reprime de modo específico a transcrição gênica. A ação mais proeminente do 1,25-diOH-D₃ é a regulação dos níveis plasmáticos de cálcio e fósforo.

A. Distribuição da vitamina D

1. **Dieta.** O ergocalciferol (vitamina D₂), encontrado em plantas, e o colecalciferol (vitamina D₃), encontrado em tecidos animais, são fontes de atividade de vitamina D pré-formada (Figura 28.22). O ergocalciferol e o colecalciferol diferem quimicamente apenas pela presença de uma ligação dupla adicional e de um grupo metila no esteroide vegetal.
2. **Precursor endógeno da vitamina.** O 7-desidrocolesterol, um intermediário na síntese do colesterol, é convertido em colecalciferol na derme e na epiderme de humanos expostos à luz solar. A vitamina D pré-formada é uma necessidade dietética apenas em indivíduos com exposição limitada à luz solar.

B. Metabolismo da vitamina D

1. **Formação do 1,25-diOH-D₃.** As vitaminas D₂ e D₃ não são biologicamente ativas, mas são convertidas *in vivo* na forma ativa da vitamina D por duas reações sequenciais de hidroxilação (Figura 28.23). A primeira hidroxilação ocorre na posição 25 e é catalisada por uma *hidroxilase* específica, no fígado. O produto da reação, 25-hidroxi-colecalciferol (25-OH-D₃, calcidol), é a forma predominante da vitamina D no plasma e a principal forma de armazenamento da vitamina. O 25-OH-D₃ é posteriormente hidroxilado na posição 1 pela *25-hidroxicolecalciferol-1-hidroxilase*, encontrada principalmente no rim, resultando na formação de 1,25-diOH-D₃ (calcitriol). (Nota: essa hidroxilase, assim como a *25-hidroxilase* do fígado, é uma proteína contendo citocromo P450 [CYP] [veja p. 149].)

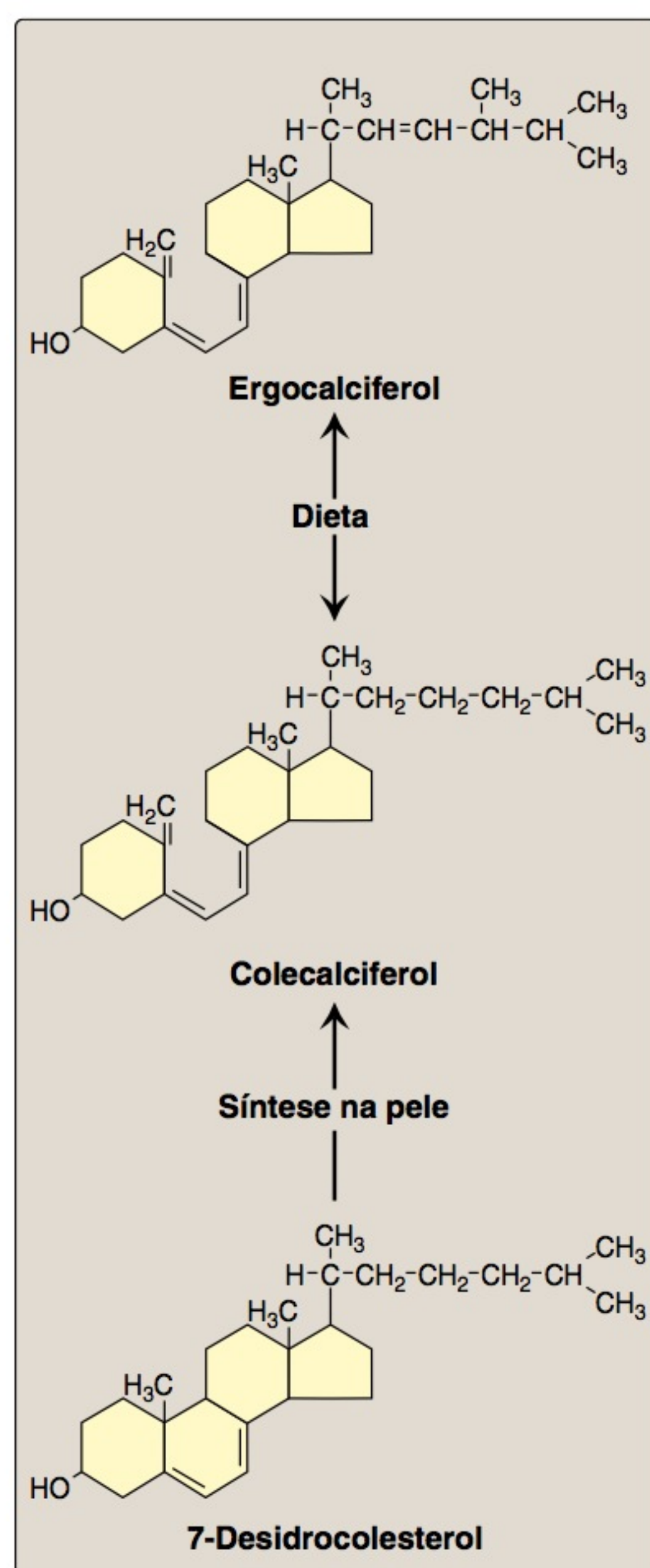


Figura 28.22
Fontes de vitamina D.

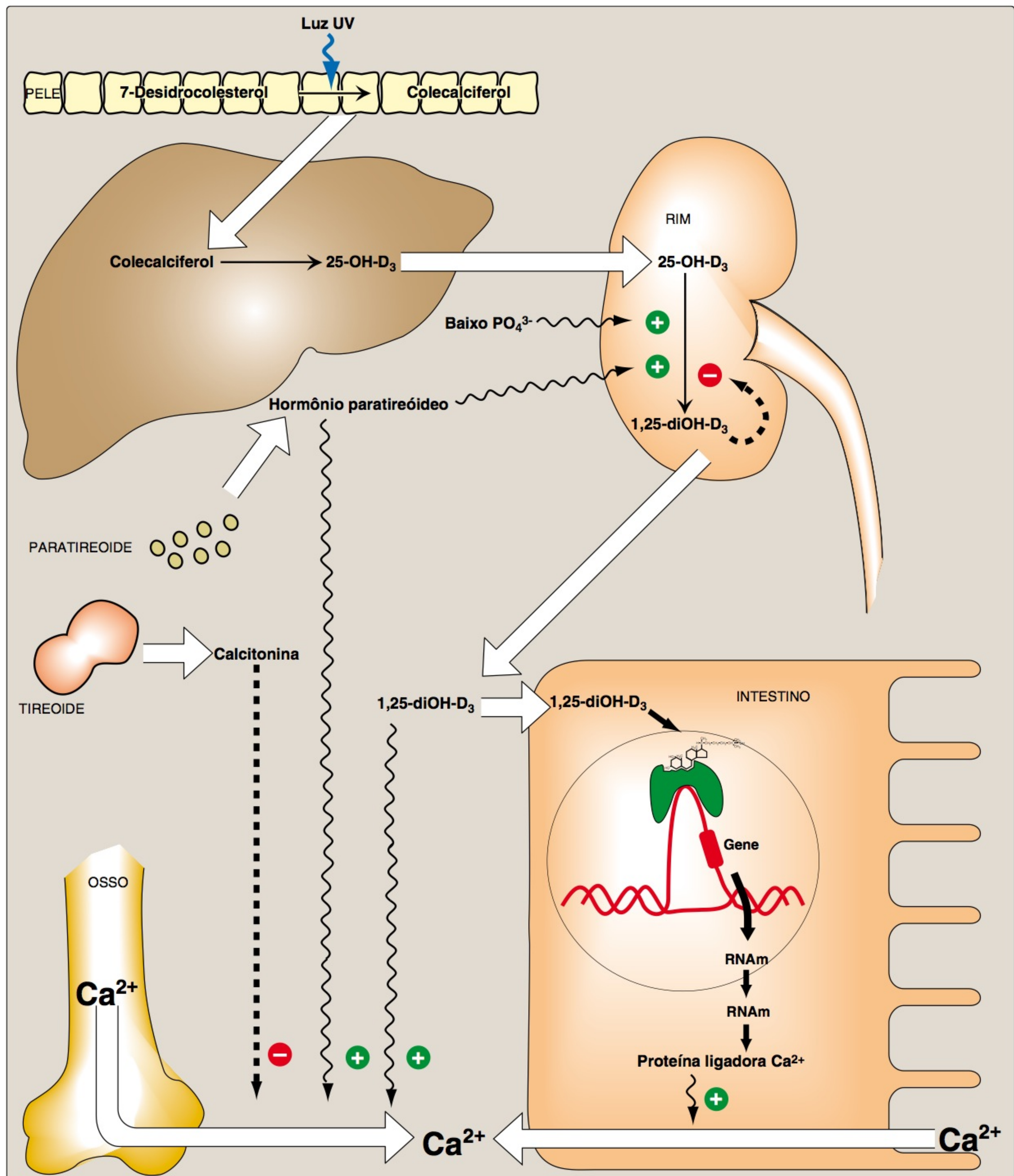


Figura 28.23

Metabolismo e ações da vitamina D. (Nota: a calcitonina, um hormônio da tireoide, diminui o cálcio sanguíneo por inibir a mobilização do cálcio a partir dos ossos e a reabsorção pelo rim.)

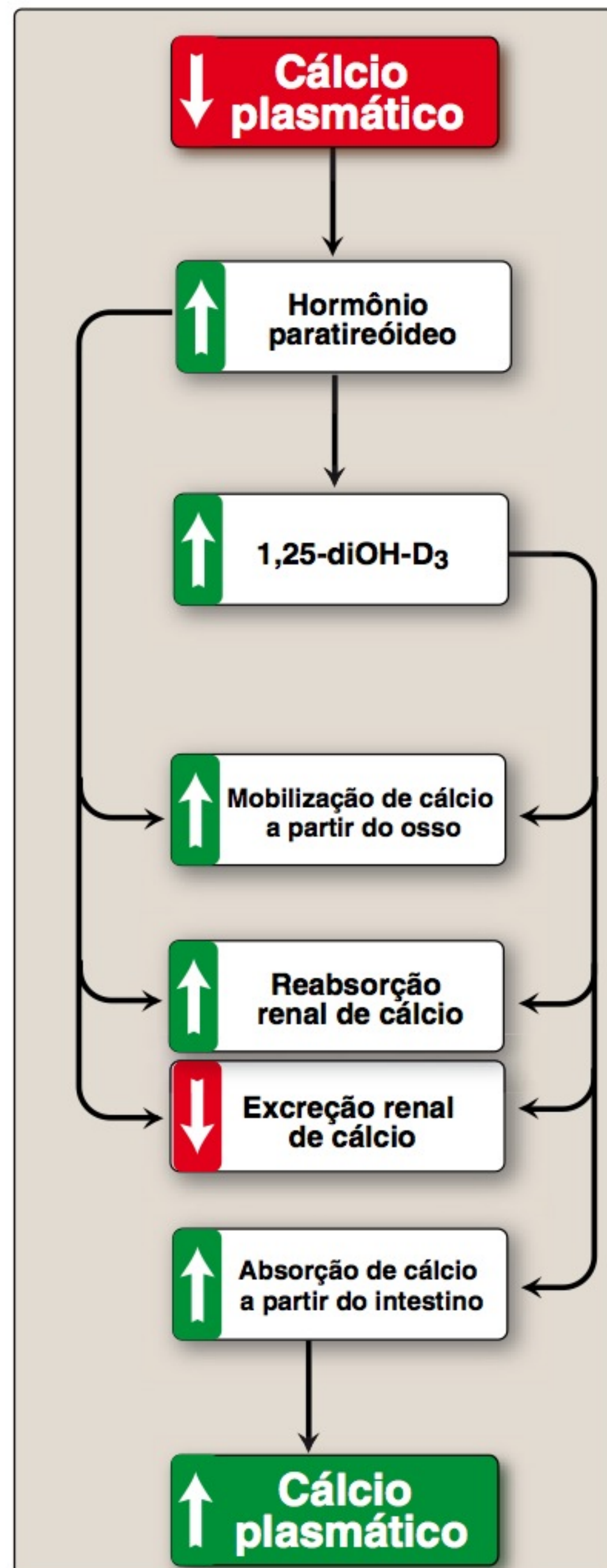


Figura 28.24

Resposta ao baixo cálcio plasmático.

2. Regulação da 25-hidroxicolecalciferol-1-hidroxilase. O 1,25-diOH-D₃ é o mais potente metabólito da vitamina D. Sua formação é fortemente regulada pelos níveis plasmáticos de íons fosfato e cálcio (Figura 28.24). A atividade da *25-hidroxicolecalciferol-1-hidroxilase* aumenta diretamente em função de baixo fosfato plasmático ou indiretamente por diminuição do cálcio no plasma, que dispara a liberação do hormônio paratireóideo (PTH). A hipocalcemia, causada por deficiência de cálcio na dieta, resulta assim em níveis elevados de 1,25-diOH-D₃ no plasma. A atividade de *1-hidroxilase* é também diminuída por excesso de 1,25-diOH-D₃, o produto da reação.

C. Funções da vitamina D

A função geral do 1,25-diOH-D₃ é a manutenção de níveis plasmáticos adequados de cálcio. Essa função é realizada com as seguintes estratégias: 1) aumento na captação de cálcio pelo intestino; 2) minimização da perda de cálcio pelo rim; e 3) estímulo da reabsorção óssea quando necessário (veja a Figura 28.23).

- 1. Efeito da vitamina D sobre o intestino.** O 1,25-diOH-D₃ estimula a absorção intestinal de cálcio e fosfato. O 1,25-diOH-D₃ entra na célula intestinal e liga-se a um receptor citosólico. O complexo 1,25-diOH-D₃-receptor move-se então para o núcleo, onde interage seletivamente com o DNA celular. Como resultado, a captação de cálcio é aumentada pelo aumento na síntese de uma proteína ligadora de cálcio específica. Assim, o mecanismo de ação do 1,25-diOH-D₃ é típico dos hormônios esteroides (veja a p. 240).
- 2. Efeito da vitamina D sobre os ossos.** O 1,25-diOH-D₃ estimula a mobilização do cálcio e do fosfato dos ossos por um processo que necessita de síntese proteica e da presença de PTH. O resultado é o aumento no cálcio e no fosfato plasmáticos. Assim, os ossos são reservas importantes de cálcio, que podem ser mobilizadas para manter os níveis plasmáticos.

D. Distribuição e necessidades de vitamina D

A vitamina D ocorre naturalmente em peixes gordurosos, fígado e gema de ovo. O leite, a menos que seja fortificado artificialmente, não é boa fonte dessa vitamina. A ingestão adequada (IA) para a vitamina D é 200 unidades internacionais (UI) até os 50 anos e 400 a 600 UI após essa idade.

E. Indicações clínicas

- 1. Raquitismo nutricional.** A deficiência de vitamina D causa a efetiva desmineralização dos ossos, resultando em raquitismo nas crianças e em osteomalácia nos adultos (Figura 28.25). O raquitismo caracteriza-se pela formação contínua da matriz de colágeno dos ossos, mas com mineralização incompleta, resultando em ossos flexíveis e maleáveis. Na osteomalácia, a desmineralização de ossos preexistentes aumenta a suscetibilidade a fraturas. Exposição insuficiente à luz solar e/ou deficiência no consumo de vitamina D ocorre predominantemente em bebês e idosos. A deficiência de vitamina D é mais comum nas latitudes norte, pois ocorre menor síntese de vitamina D na pele como resultado da exposição reduzida à luz ultravioleta. (Nota: a ingestão recomendada de 200 UI/dia [que corresponde a 5 µg de colecalciferol] pode ser insuficiente, pois tem

sido demonstrado que doses de 800 UI/dia reduzem a incidência de fraturas osteoporóticas.) Níveis séricos adequados de 25-hidroxicalciferol (>75 nmol/L) têm sido associados a uma prevenção contra quedas em idosos, bem como ao aumento da força muscular e da massa óssea.

- 2. Osteodistrofia renal.** A falência renal crônica resulta na diminuição da capacidade de produzir a forma ativa da vitamina D. A suplementação com calcitriol é uma terapia eficiente. (Nota: a suplementação com vitamina D é acompanhada pela terapia de redução do fósforo para prevenir a hiperfosfatemia [devido à falência renal] e a precipitação de cristais de fosfato de cálcio.)
- 3. Hipoparatiroidismo.** A ausência do hormônio paratireóide causa hipocalcemia e hiperfosfatemia. Esses pacientes podem ser tratados pela suplementação com calcitriol e cálcio.

F. Toxicidade da vitamina D

Como as demais vitaminas lipossolúveis, a vitamina D pode ser armazenada no organismo, sendo apenas vagarosamente metabolizada. Doses altas (100.000 UI por semanas ou meses) podem causar perda do apetite, náusea, sede e estupor. Aumento na absorção de cálcio e reabsorção óssea resultam em hipercalcemia, que pode levar à deposição de cálcio em muitos órgãos, especialmente nas artérias e nos rins. O limite superior tolerável é de 2.000 UI/ dia.



Figura 28.25

Pernas em arco de homem de meia-idade com osteomalácia, uma deficiência nutricional de vitamina D, que resulta em má formação do esqueleto.

XIII. VITAMINA K

O principal papel da vitamina K é a modificação pós-traducional de vários fatores de coagulação sanguínea, em que essa vitamina serve como coenzima na carboxilação de certos resíduos de ácido glutâmico presentes nessas proteínas. A vitamina K existe em diversas formas, por exemplo, como filoquinona (ou vitamina K₁) nas plantas e como menaquinona (ou vitamina K₂) nas bactérias da flora intestinal. Para a terapia, está disponível um derivado sintético da vitamina K, a menadiona.

A. Funções da vitamina K

- 1. Formação do γ -carboxiglutamato (Gla).** A vitamina K é necessária para a síntese hepática de protrombina e dos fatores de coagulação sanguínea II, VII, IX e X. Essas proteínas são sintetizadas como moléculas precursoras inativas. A formação dos fatores de coagulação requer carboxilação de resíduos de ácido glutâmico, que é dependente de vitamina K, produzindo resíduos Gla (Figura 28.26). Com isso, forma-se um fator de coagulação maduro, que contém Gla e é capaz de subsequente ativação. A reação requer O₂, CO₂ e a forma hidroquinona da vitamina K. A formação de Gla é sensível à inibição por dicumarol, um anticoagulante de ocorrência natural em células de trevo cheiroso em deterioração, e por varfarina, análogo sintético da vitamina K.
- 2. Interação da protrombina com plaquetas.** Os resíduos de Gla da protrombina são bons quelantes de íons cálcio, carregados positivamente, devido à presença de dois grupos carboxilato adjacentes, negativamente carregados. O complexo protrombina-cálcio é então capaz de ligar-se a fosfolípidos essenciais para a coagulação sanguínea, na superfície das plaquetas. A ligação às

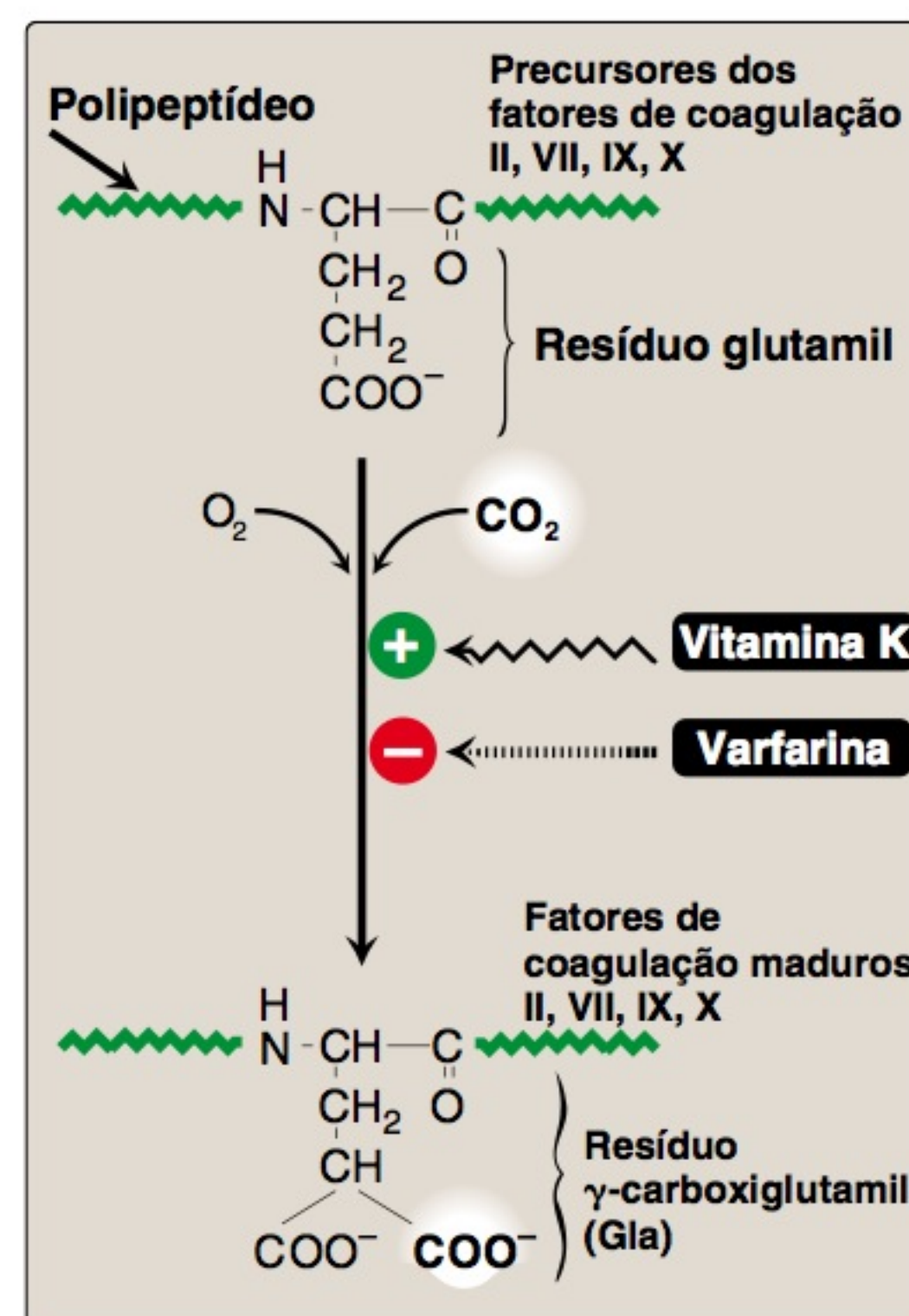


Figura 28.26

Carboxilação do glutamato, para formar γ -carboxiglutamato (Gla).

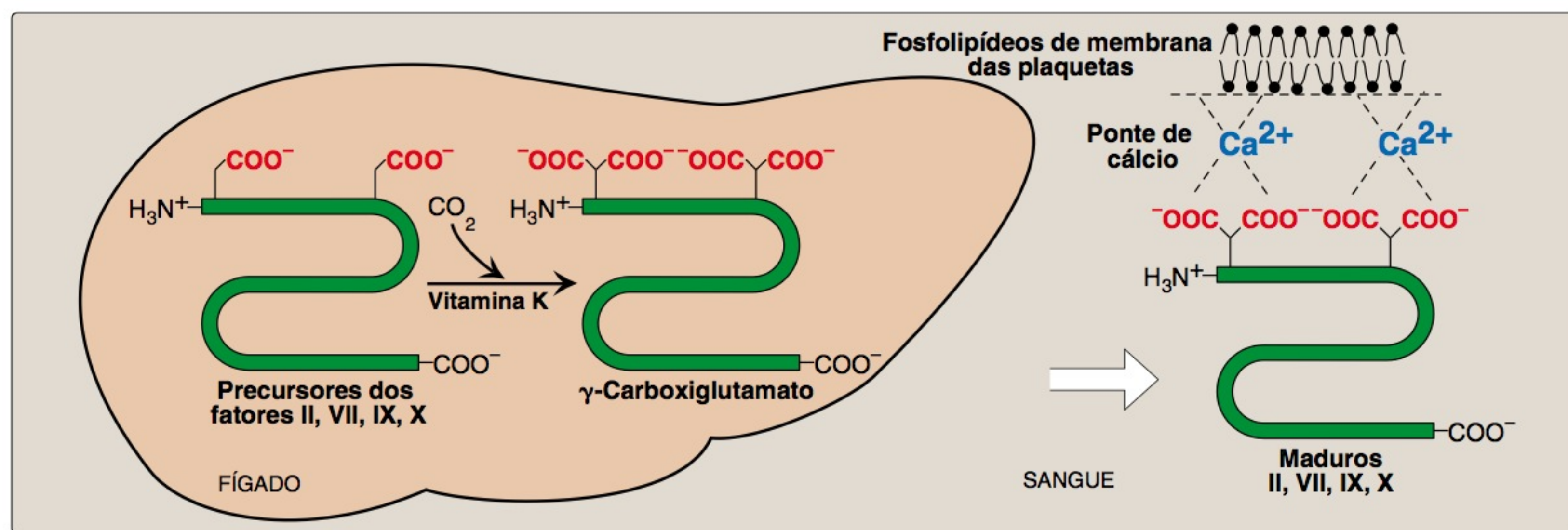


Figura 28.27

Papel da vitamina K na coagulação sanguínea.

plaquetas aumenta a taxa da conversão proteolítica de protrombina em trombina (Figura 28.27).

- 3. Papel dos resíduos de Gla em outras proteínas** O Gla está também presente em outras proteínas (p. ex., na osteocalcina dos ossos e em proteínas, como a proteína C, envolvida em limitar a formação de coágulos sanguíneos).

B. Distribuição e necessidades de vitamina K

A vitamina K é encontrada no repolho, na couve-flor, no espinafre, na gema do ovo e no fígado. Há também intensa síntese dessa vitamina pelas bactérias intestinais. A IA para a vitamina K é de 120 µg/dia para homens adultos e 90 µg/dia para mulheres adultas.

A. Indicações clínicas

- 1. Deficiência de vitamina K.** Uma deficiência verdadeira de vitamina K é incomum, pois quantidades adequadas são geralmente produzidas pelas bactérias intestinais ou obtidas a partir da dieta. Se a população bacteriana no intestino diminui, por exemplo, pelo uso de antibióticos, a quantidade de vitamina formada endogenamente diminui e pode levar à hipoprotrombinemia em indivíduos marginalmente subnutridos (p. ex., um paciente geriátrico debilitado). Essa condição pode necessitar de uma suplementação com vitamina K para corrigir a tendência a sangramentos. Além disso, certas cefalosporinas de segunda geração (p. ex., cefoperazona, cefamandol e moxalactam) causam hipo-protrombinemia, aparentemente por meio de um mecanismo do tipo da varfarina. Em consequência disso, o seu uso como tratamento é normalmente suplementado com vitamina K.
- 2. Deficiência de vitamina K no recém-nascido.** Recém-nascidos possuem intestinos estéreis e, inicialmente, não possuem as bactérias que sintetizam a vitamina K. Uma vez que o leite humano fornece apenas cerca de um quinto das necessidades diárias de vitamina K, é recomendado que todos os recém-nascidos recebam uma dose única intramuscular de vitamina K profilaticamente contra doenças hemorrágicas.

D. Toxicidade da vitamina K

A administração prolongada de doses elevadas de vitamina K sintética (menadiona) pode produzir anemia hemolítica e icterícia no bebê, devido a efeitos tóxicos na membrana dos eritrócitos; portanto, essa não é mais utilizada para tratar a deficiência de vitamina K. O limite superior tolerável ainda não está bem determinado para a vitamina K.

XIV. VITAMINA E

As vitaminas E consistem em oito tocoferóis de ocorrência natural, dos quais o α -tocoferol é o mais ativo (Figura 28.28). Sua principal função é como antioxidante na prevenção da oxidação não enzimática de componentes celulares (p. ex., ácidos graxos poli-insaturados) pelo oxigênio molecular e radicais livres.

A. Distribuição e necessidades de vitamina E

Óleos vegetais são fontes ricas em vitamina E, ao passo que fígado e ovos contêm quantidades moderadas dessa vitamina. A QDR para o α -tocoferol é 15 mg para adultos. As necessidades de vitamina E aumentam à medida que aumenta a ingestão de ácidos graxos poli-insaturados.

B. Deficiência de vitamina E

A deficiência de vitamina E está quase inteiramente restrita a bebês prematuros. Quando observada em adultos, normalmente está associada a defeitos na absorção ou no transporte de lipídeos. Os sinais de deficiência de vitamina E em humanos incluem a sensibilidade dos eritrócitos a peróxidos e o aparecimento de membranas celulares anormais.

C. Indicações clínicas

A vitamina E não é recomendada para a prevenção de doenças crônicas, como doença cardíaca coronariana ou câncer. Testes clínicos utilizando suplementação com vitamina E têm sido invariavelmente desanimadores. Por exemplo, em um ensaio do Estudo de Prevenção de Câncer utilizando α -tocoferol e β -caroteno, os participantes que receberam altas doses de vitamina E não apenas não obtiveram benefícios cardiovasculares como também apresentaram aumento na incidência de acidente vascular cerebral.

D. Toxicidade da vitamina E

A vitamina E é a menos tóxica das vitaminas lipossolúveis e não tem sido observada qualquer toxicidade em doses de 300 mg/dia.

Populações que consomem dietas ricas em frutas e vegetais apresentam diminuição na incidência de certas doenças crônicas. Entretanto, ensaios clínicos têm falhado em demonstrar um benefício definitivo da suplementação com vitaminas A, C ou E, com multivitaminas contendo ácido fólico ou com combinações de antioxidantes para a prevenção de câncer ou doenças cardiovasculares.

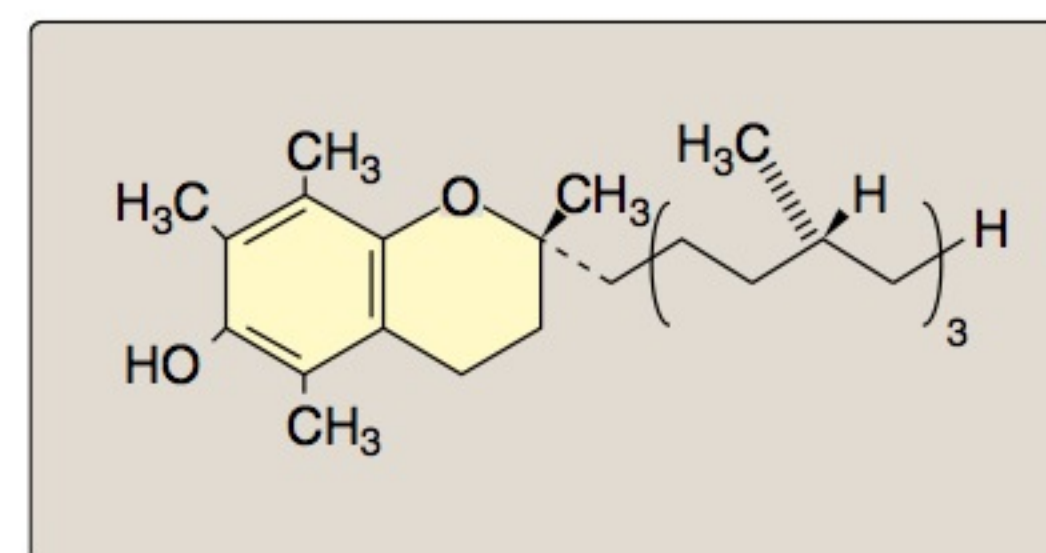


Figura 28.28
Estrutura da vitamina E.

As vitaminas estão resumidas na Figura 28.29.

VITAMINA	OUTROS NOMES	FORMA ATIVA	FUNÇÃO
Ácido fólico	—	Ácido tetra-hidrofólico	Transferência de unidades de um carbono; Síntese de metionina, purinas e monofosfato de timidina
Vitamina B ₁₂	Cobalamina	Metilcobalamina Desoxiadenosil-cobalamina	Coenzima para as reações: Homocisteína → Metionina Metilmalonil-CoA → Succinil-CoA
Vitamina C	Ácido ascórbico	Ácido ascórbico	Antioxidante Coenzima em reações de hidroxilação, por exemplo: no pró-colágeno: Prolina → hidroxiprolina Lisina → hidroxilisina
Vitamina B ₆	Piridoxina Piridoxamina Piridoxal	Piridoxal fosfato	Coenzima para enzimas, especialmente no metabolismo dos aminoácidos
Vitamina B ₁	Tiamina	Pirofosfato de tiamina	Coenzima para enzimas, catalisando: Piruvato → Acetil-CoA α-cetoglutarato → Succinil-CoA Ribose-5-P + Xilulose-5-P Sedoheptulose-7-P + Gliceraldeído-3-P Oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada
Niacina	Ácido nicotínico Nicotinamida	NAD ⁺ , NADP ⁺	Transferência de elétrons
Vitamina B ₂	Riboflavina	FMN, FAD	Transferência de elétrons
Biotina	—	Biotina ligada à enzima	Reações de carboxilação
Ácido pantotênico	—	Coenzima A	Transportador de acilas
HIDROSSOLÚVEIS			
Vitamina A	Retinol Retinal Ácido retinoico β-Caroteno	Retinol Retinal Ácido retinoico	Manutenção da reprodução Visão Promoção do crescimento Diferenciação e manutenção de tecidos epiteliais Expressão gênica
Vitamina D	Colecalciferol Ergocalciferol	1,25-Di-hidroxi-colecalciferol	Captação de cálcio
Vitamina K	Menadiona Menaquinona Filoquinona	Menadiona Menaquinona Filoquinona	γ-Carboxilação de resíduos de glutamato em fatores de coagulação e outras proteínas
Vitamina E	α-Tocoferol	Qualquer dos diversos derivados tocoferóis	Antioxidante
LIPOSSOLÚVEIS			

Figura 28.29 (Continua na próxima página.)

Resumo das vitaminas.

DEFICIÊNCIA	SINAIS E SINTOMAS	TOXICIDADE	NOTAS
Anemia megaloblástica Defeitos do tubo neural	Anemia Defeitos congênitos	Nenhuma	A administração de altas doses de folato pode mascarar uma deficiência de vitamina B ₁₂
Anemia perniciosa Demência Degeneração espinal	Anemia megaloblástica Sintomas neuropsiquiátricos	Nenhuma	A anemia perniciosa é tratada com vitamina B ₁₂ intramuscular ou altas doses via oral
Escorbuto	Gengivas doloridas e esponjosas Perda de dentes Difícil cicatrização	Nenhuma	Benefícios de suplementação não estão estabelecidos em testes controlados
Rara	Glossite Neuropatia	Sim	A deficiência pode ser induzida por isoniazida A neuropatia sensorial ocorre com doses altas
Beribéri Síndrome de Wernicke-Korsakoff (mais comum em alcoolistas)	Taquicardia, vômitos, convulsões Apatia, perda de memória, movimentos oculares	Nenhuma	—
Pelagra	Dermatite Diarreia Demência	Nenhuma	Doses altas de niacina são utilizadas no tratamento da hiperlipidemia
Rara	Dermatite Estomatite angular	Nenhuma	—
Rara	—	Nenhuma	O consumo de grandes quantidades de claras de ovos cruas (que contêm uma proteína, a avidina, que liga a biotina) pode induzir deficiência de biotina
Rara	—	Nenhuma	—
HIDROSSOLÚVEIS			
Infertilidade Cegueira noturna Retardo do crescimento Xeroftalmia	Aumento do limiar visual Ressecamento da córnea	Sim	LIPOSSOLÚVEIS O β-caroteno não é tóxico de forma aguda, mas sua suplementação não é recomendada Excesso de vitamina A pode aumentar a incidência de fraturas
Raquitismo (em crianças) Osteomalácia (em adultos)	Ossos flexíveis e maleáveis	Sim	A vitamina D não é uma vitamina de fato, pois pode ser sintetizada na pele. A aplicação de protetor solar ou a presença de pele escura diminui essa síntese.
Em recém-nascidos Rara nos adultos	Sangramento	Rara	A vitamina K é produzida por bactérias intestinais A deficiência de vitamina K é comum em recém-nascidos O tratamento com vitamina K intramuscular é recomendado ao nascimento
Rara	A fragilidade eritrocitária leva à anemia hemolítica	Nenhuma	Benefícios de suplementação não estão estabelecidos em testes controlados

Figura 28.29 (Continuação da página anterior.)

Resumo das vitaminas.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

28.1 Qual das seguintes afirmativas a respeito da vitamina B₁₂ está correta?

- A. A forma de cofator é a própria vitamina B₁₂.
- B. Está envolvida na transferência de grupos amino.
- C. Precisa de uma glicoproteína específica para sua absorção.
- D. Está presente em produtos vegetais.
- E. Sua deficiência é causada mais frequentemente por falta da vitamina na dieta.

Resposta correta = C. A vitamina B₁₂ precisa do fator intrínseco para sua absorção. Uma deficiência de vitamina B₁₂ é causada mais frequentemente pela falta do fator intrínseco. No entanto, doses altas da vitamina administradas por via oral são suficientemente absorvidas para servir como tratamento para a anemia perniciosa. As formas de cofator são a metilcobalamina e a desoxiadenosilcobalamina. A vitamina B₆, e não a vitamina B₁₂, está envolvida na transferência de grupos amino. A vitamina B₁₂ é encontrada em alimentos derivados de fontes animais.

28.2 O retinol:

- A. pode ser formado enzimaticamente a partir do ácido retinoico.
- B. em sua forma éster, é transportado do intestino ao fígado nos quilomicra.
- C. é a porção que absorve a luz na rodopsina.
- D. é fosforilado e desfosforilado durante o ciclo visual.
- E. medeia a maior parte das ações dos retinoides.

Resposta correta = B. Ésteres de retinila são incorporados nos quilomicra. O ácido retinoico não pode ser reduzido a retinol. O retinal, a forma aldeídica do retinol, é o cromóforo da rodopsina. O retinal é fotoisomerizado durante o ciclo visual. O ácido retinoico, e não o retinol, é o mais importante dos retinoides.

28.3 Qual das seguintes afirmativas a respeito da vitamina D está correta?

- A. A insuficiência renal crônica requer a administração oral de 1,25-di-hidroxicolecalciferol.
- B. É necessária na dieta de indivíduos expostos à luz solar.
- C. O 25-hidroxicolecalciferol é a forma ativa da vitamina.
- D. A vitamina D opõe-se ao efeito do hormônio paratireoideo.
- E. Uma deficiência de vitamina D resulta em secreção aumentada de calcitonina.

Resposta correta = A. A insuficiência renal resulta em redução na capacidade de compor a forma ativa da vitamina, que então deve ser fornecida. A vitamina não é necessária em indivíduos expostos à luz solar. O 1,25-di-hidroxicolecalciferol é a forma ativa da vitamina. A vitamina D e o hormônio paratireoideo aumentam o cálcio sérico. Uma deficiência de vitamina D diminui a secreção de calcitonina.

28.4 A vitamina K:

- A. desempenha papel essencial na prevenção da trombose.
- B. aumenta o tempo de coagulação em recém-nascidos com doença hemorrágica.
- C. está presente em altas concentrações no leite materno e no leite de vaca.
- D. é sintetizada por bactérias intestinais.
- E. é uma vitamina hidrossolúvel.

Resposta correta = D. A vitamina K é essencial para a formação do coágulo, diminui o tempo de coagulação e está presente em baixas concentrações no leite. É uma das quatro vitaminas lipossolúveis.

28.5 Deficiências de quais vitaminas resultam em beribéri, escorbuto, pelagra, cegueira noturna, raquitismo ou osteomalácia, anemia perniciosa, anemia megaloblástica, sangramento?

Tiamina; Vitamina C; Niacina; Vitamina A; Vitamina D; Vitamina B₁₂ (devido principalmente a uma deficiência do fator intrínseco); ambos, B₁₂ e folato; Vitamina K.

UNIDADE VI:

Armazenamento e Expressão da Informação Genética

29

Estrutura, Replicação e Reparo do DNA

I. VISÃO GERAL

Os ácidos nucleicos são necessários para o armazenamento e a expressão da informação genética. Existem dois tipos quimicamente distintos de ácidos nucleicos: o ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonucleico (RNA, veja o Capítulo 30). O DNA, o depósito da informação genética, está presente não somente nos cromossomos dentro do núcleo dos organismos eucarióticos, mas também nas mitocôndrias, e ainda nos cloroplastos de plantas. As células procarióticas, que não apresentam núcleo, possuem um único cromossomo, mas também podem conter DNA não cromossômico, na forma de plasmídeos. A informação genética encontrada no DNA é copiada e transmitida para as células-filhas por meio da replicação do DNA. O DNA contido em uma célula-ovo fertilizada codifica a informação que direciona o desenvolvimento de um organismo. Esse desenvolvimento pode envolver a produção de bilhões de células. Cada célula é especializada, expressando somente as funções necessárias para desempenhar o seu papel na manutenção do organismo. Dessa forma, o DNA deve ser capaz não somente de replicar-se de forma precisa cada vez que uma célula se divide, mas também de expressar, de forma seletiva, a informação que contém. A transcrição (síntese de RNA) é o primeiro estágio na expressão da informação genética (veja o Capítulo 30). A seguir, o código contido na sequência de nucleotídeos das moléculas de RNA mensageiro é traduzido (síntese proteica, veja o Capítulo 31), completando assim a expressão gênica. A regulação da expressão gênica é discutida no Capítulo 32.

O fluxo de informação do DNA para o RNA e deste para a proteína é denominado de “dogma central” da biologia molecular (Figura 29.1); é representativo para todos os organismos, à exceção de alguns vírus que possuem o RNA como o repositório de sua informação genética.

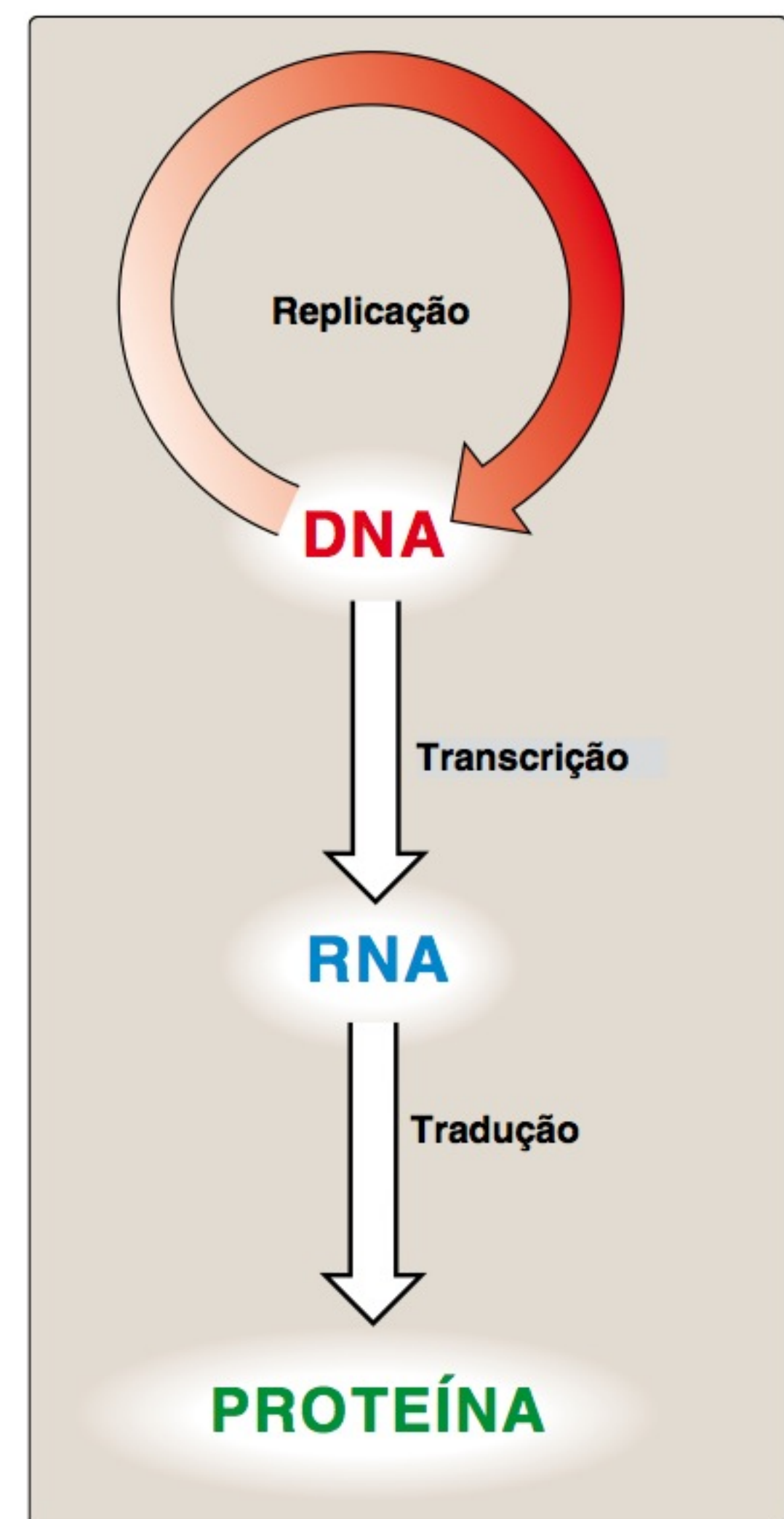


Figura 29.1

O “dogma central” da biologia molecular.

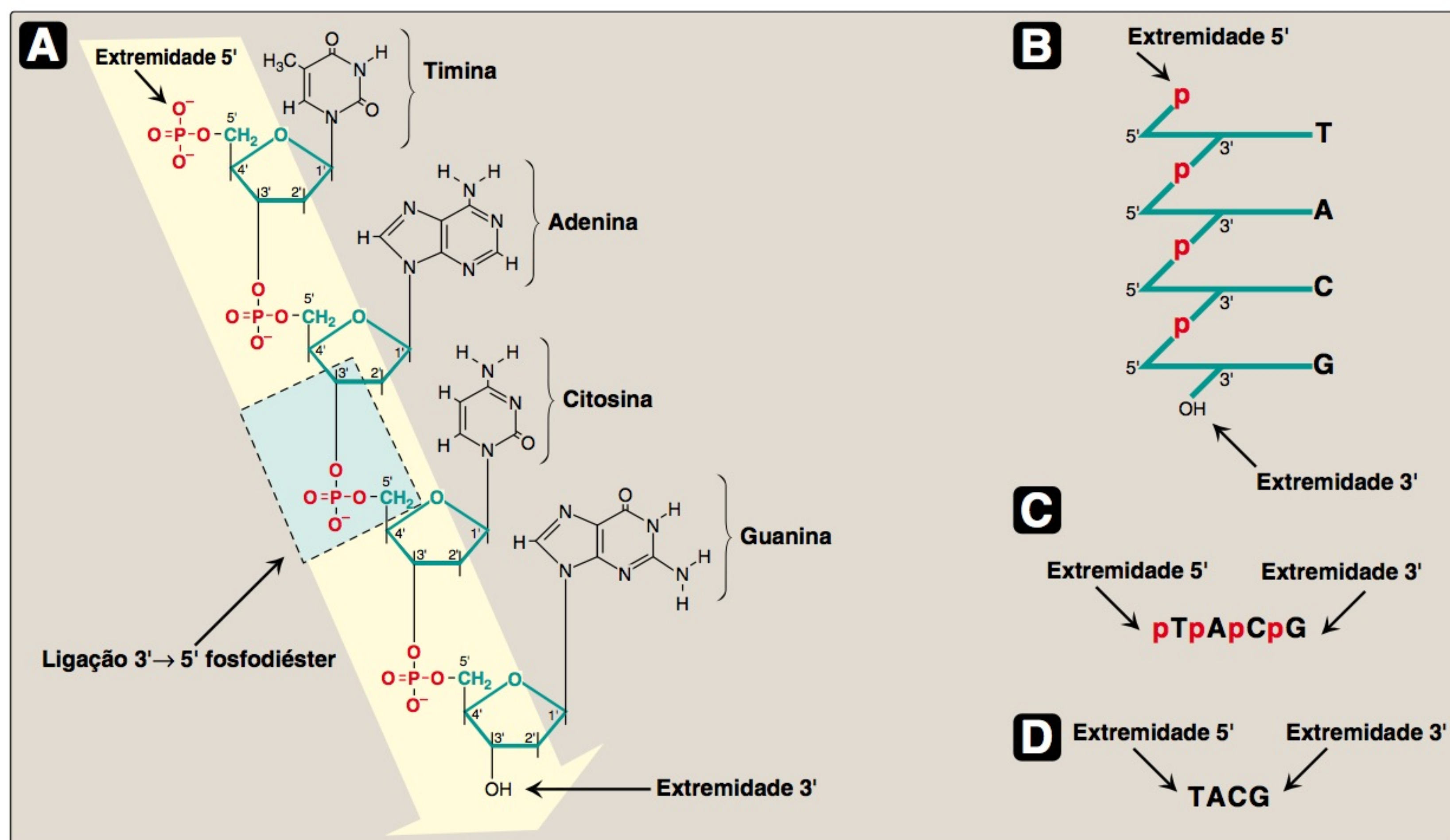


Figura 29.2

A. Cadeia de DNA com a sequência de nucleotídeos indicada no sentido 5'→3'. Uma ligação 3'→5' fosfodiéster é mostrada em realce na caixa azul, e o esqueleto de desoxirribose-fosfato está sombreado em amarelo. B. A cadeia de DNA escrita de forma mais estilizada, enfatizando o esqueleto de ribose-fosfato. C. Uma representação mais simples da sequência nucleotídica. D. A representação mais simples (e mais comum), com as abreviações para as bases escritas no sentido 5'→3' convencional.

II. ESTRUTURA DO DNA

O DNA é um polímero de desoxirribonucleosídeos monofosfatados covalentemente unidos por ligações fosfodiéster 3'→5'. À exceção de alguns poucos vírus que contêm DNA de fita simples (fsDNA), o DNA existe na forma de uma molécula de fita dupla (fdDNA), em que as duas fitas se enrolam uma ao redor da outra, formando uma dupla-hélice. Nas células eucarióticas, o DNA encontra-se associado a vários tipos de proteínas presentes no núcleo (conhecidas coletivamente como nucleoproteínas), ao passo que, em procarionotes, o complexo proteína-DNA está presente em uma região não delimitada por membranas, conhecida como nucleóide.

A. Ligações fosfodiéster 3'→5'

Ligações fosfodiéster unem o grupo 3'-hidroxila da desoxipentose de um nucleotídeo com o grupo 5'-hidroxila da desoxipentose de um nucleotídeo adjacente, por meio de um grupo fosfato (Figura 29.2). A cadeia resultante, longa e linear, possui polaridade, apresentando uma extremidade 5' (a extremidade com o fosfato livre) e uma extremidade 3' (a extremidade com a hidroxila livre) não ligadas a outros nucleotídeos. Por convenção, as bases localizadas ao longo do esqueleto resultante de desoxirribose-fosfato são sempre escritas em sequência, a partir da extremidade 5' da cadeia para a extremidade 3'. Por exemplo, a sequência de bases de DNA, mostrada na Figura 29.2, é lida “timina, adenina, citosina, guanina” (5'-TACG-3'). As ligações fosfodiéster entre nucleotídeos (no DNA ou no RNA) podem ser clivadas hidroliticamente por substâncias químicas ou

hidrolisadas enzimaticamente por uma família de nucleases: desoxirribonucleases para o DNA e ribonucleases para o RNA. (Nota: apenas o DNA é clivado por álcalis.)

B. Dupla-hélice

Na dupla-hélice, as duas cadeias espiralam-se em torno de um eixo comum, chamado de eixo de simetria. As cadeias são pareadas de maneira antiparalela, ou seja, a extremidade 5' de uma fita pareia-se com a extremidade 3' da outra fita (Figura 29.3). Na hélice de DNA, o esqueleto hidrofílico de desoxirribose-fosfato de cada cadeia fica na parte externa da molécula, ao passo que as bases hidrofóbicas situam-se internamente. A estrutura em seu todo lembra uma escada em espiral. A relação espacial entre as duas fitas na hélice cria um sulco maior (mais amplo) e um sulco menor (mais estreito). Esses sulcos fornecem acesso para a ligação de proteínas reguladoras em sequências específicas de reconhecimento ao longo da cadeia de DNA. Certos fármacos anticâncer, como a dactinomicina (actinomomicina D), exercem os seus efeitos citotóxicos intercalando-se no sulco menor da dupla-hélice de DNA, interferindo, dessa forma, na síntese de DNA e de RNA.¹

1. **Pareamento de bases.** As bases de uma fita de DNA são pareadas com as bases da segunda fita, de maneira que a adenina é sempre pareada com a timina, e a citosina é sempre pareada com a guanina. (Nota: os pares de bases localizam-se perpendicularmente ao eixo da hélice [veja a Figura 29.3].) Dessa forma, uma cadeia polinucleotídica da dupla-hélice de DNA é sempre o complemento da outra. Sabendo-se a sequência de bases em uma cadeia, a sequência de bases da cadeia complementar pode ser determinada (Figura 29.4). (Nota: o pareamento específico de bases no DNA leva à Regra de Chargaff: em qualquer amostra de DNA com fita dupla, a quantidade de adenina é igual à quantidade de timina, a quantidade de guanina é igual à quantidade de citosina, e a quantidade total de purinas é igual à quantidade total de pirimidinas.) Os pares de bases são unidos por ligações de hidrogênio: duas ligações entre A e T e três entre G e C (Figura 29.5). Essas ligações de hidrogênio, mais as interações hidrofóbicas entre as bases empilhadas, estabilizam a estrutura da dupla-hélice.

2. **Separação das duas fitas de DNA na dupla-hélice.** As duas fitas da dupla-hélice separam-se quando se rompem as ligações de hidrogênio entre os pares de bases. A ruptura das ligações pode ocorrer em laboratório, se o pH da solução de DNA for alterado de maneira a ionizar as bases nucleotídicas, ou se a solução for aquecida. (Nota: as ligações fosfodiéster não são quebradas com tais tratamentos.) Quando o DNA é aquecido, a temperatura em que metade da estrutura helicoidal se perde é definida como temperatura de fusão (T_f). A perda da estrutura helicoidal do DNA, chamada de desnaturação, pode ser monitorada pela medição de sua absorvância a 260 nm. (Nota: o fsDNA possui uma absorvância relativa maior nesse comprimento de onda do que o fdDNA.) Uma vez que há três ligações de hidrogênio entre G e C, mas somente duas entre A e T, o DNA que contiver altas concentrações de A e T desnatura em uma temperatura menor do que o DNA rico em G e C (Figura 29.6). Em condições apropriadas, as fitas complementares de DNA

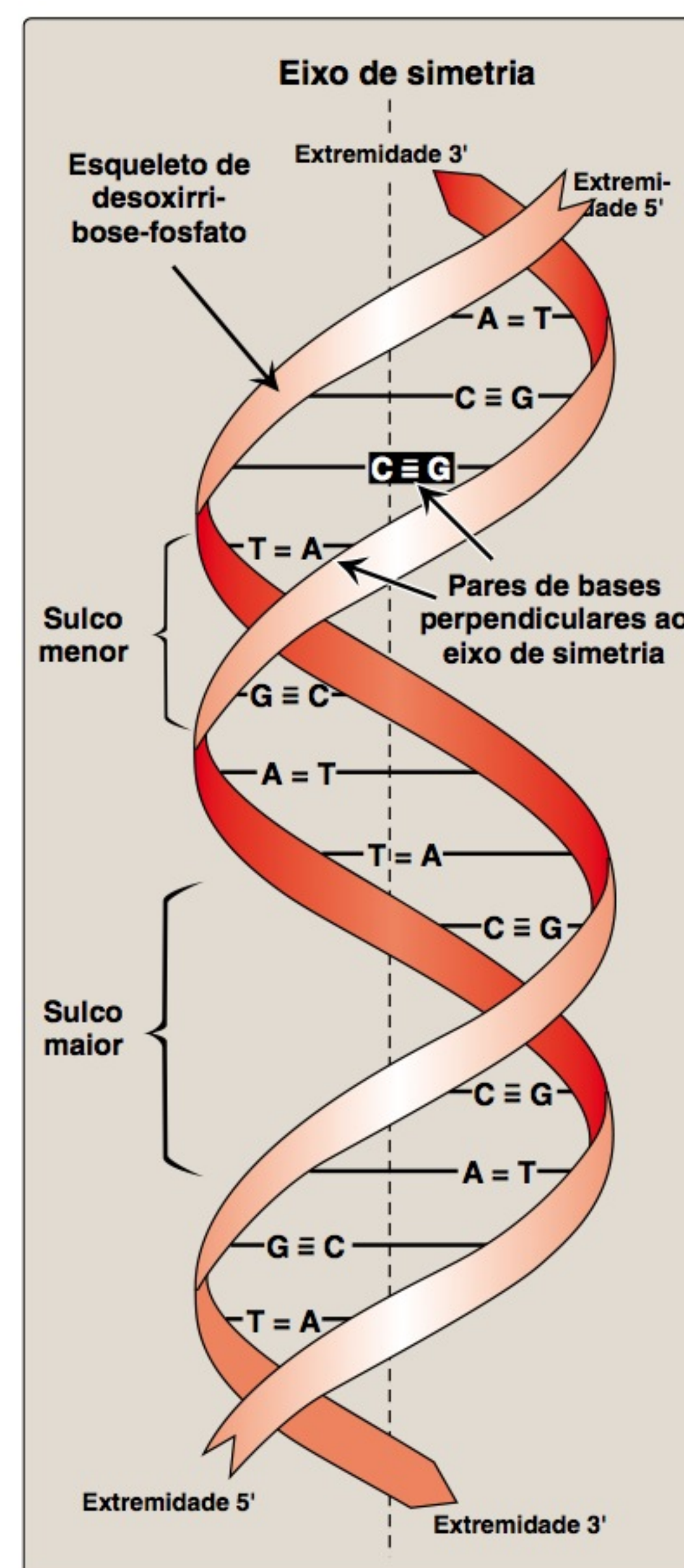


Figura 29.3

DNA dupla-hélice, ilustrando algumas das suas principais características estruturais.

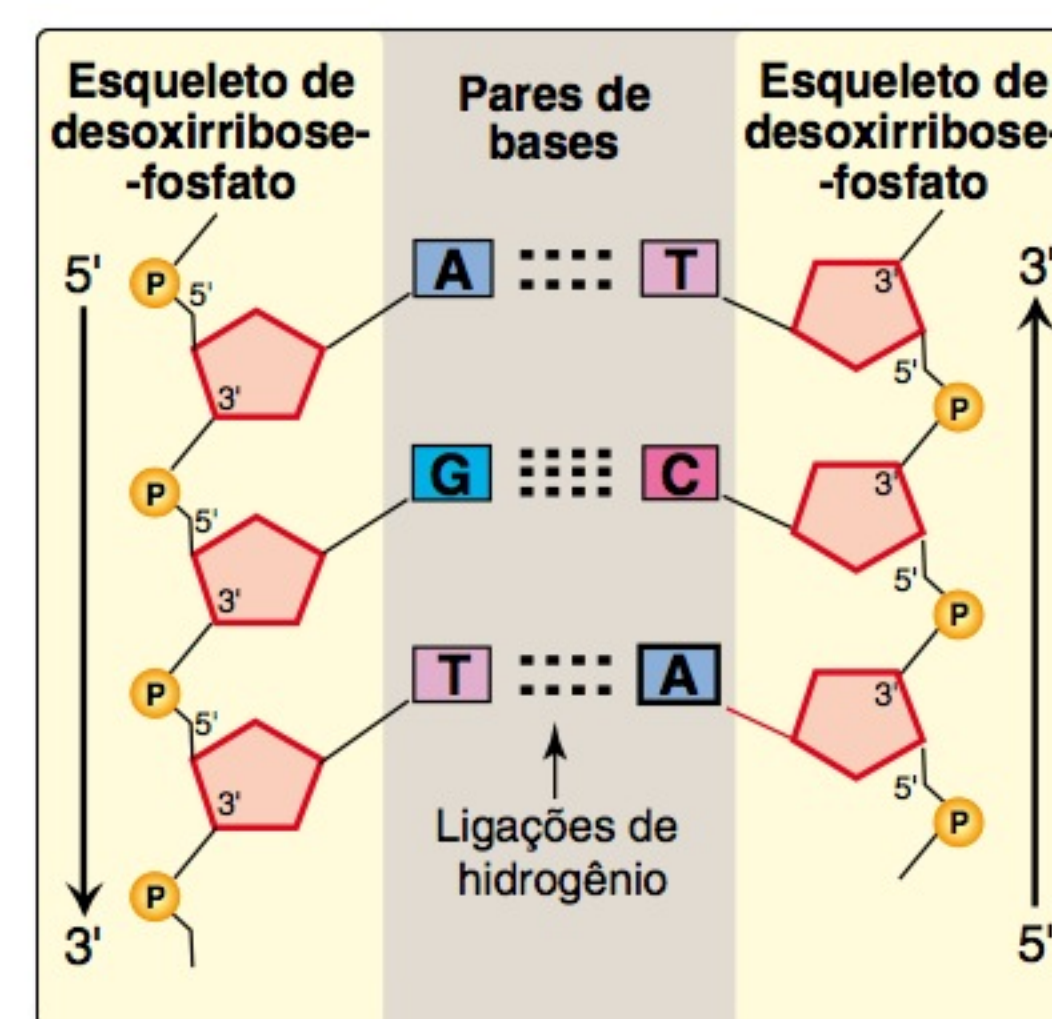
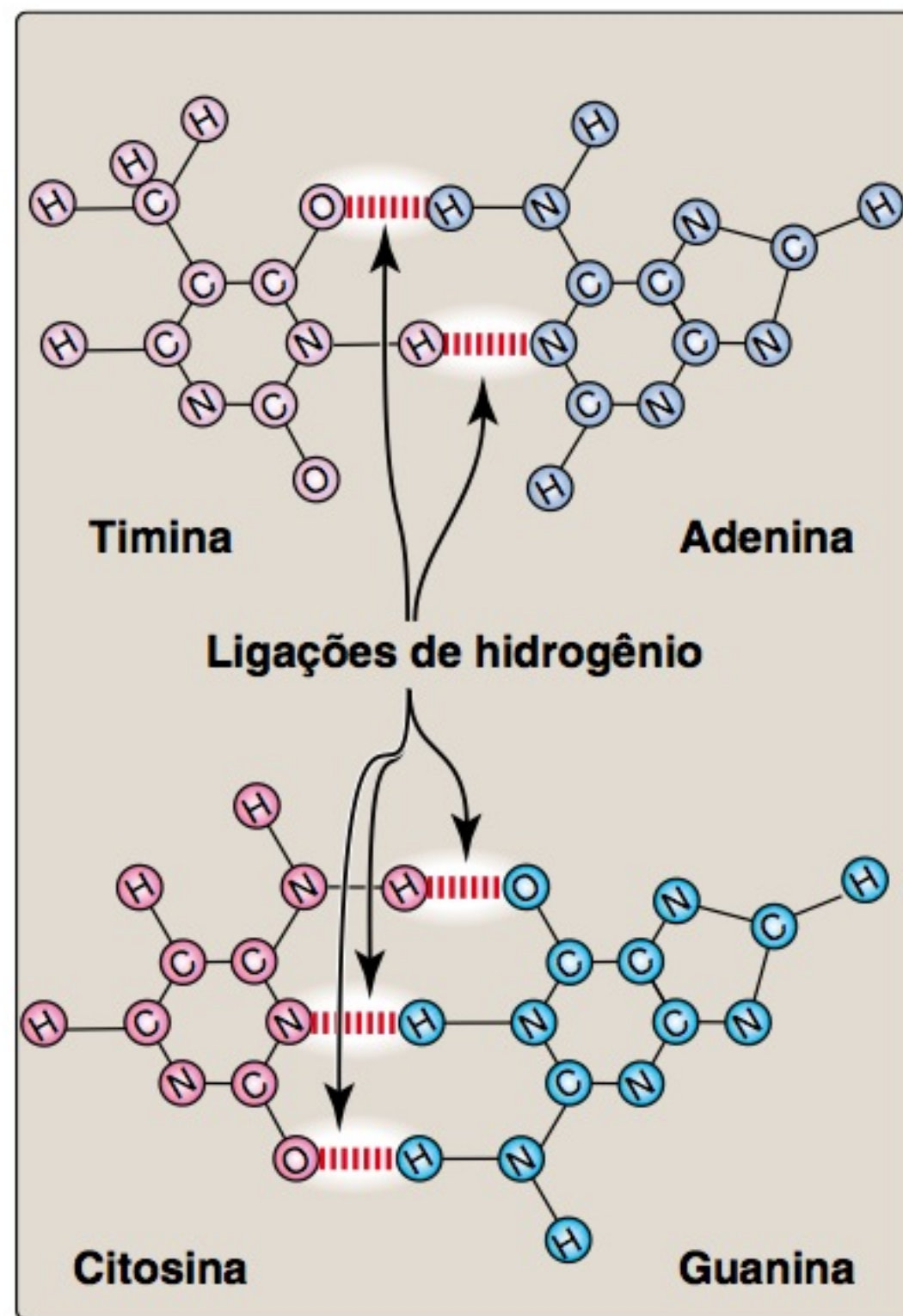


Figura 29.4

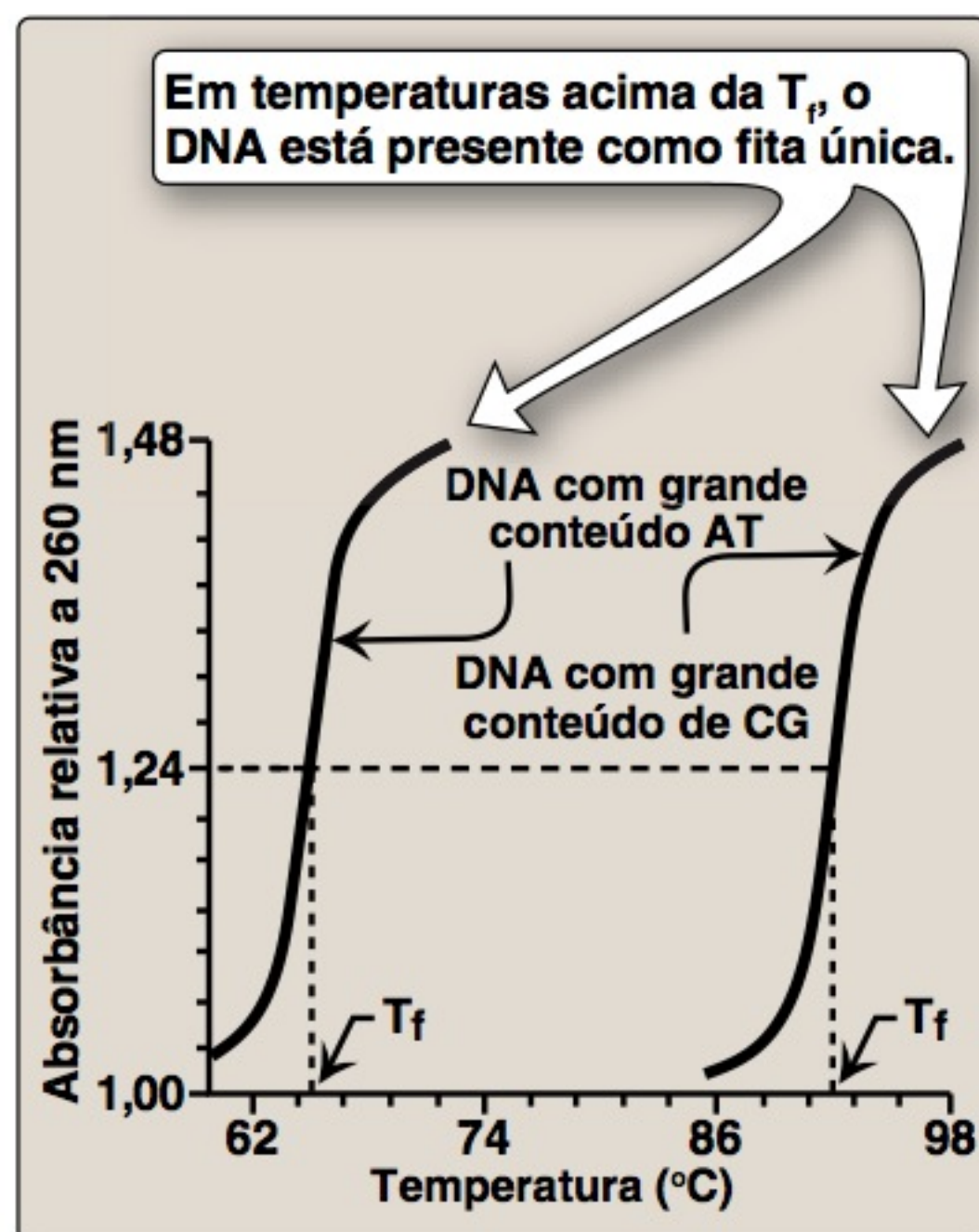
Duas sequências complementares de DNA.



¹Veja o Capítulo 39 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca do fármaco anticâncer actinomomicina D.

**Figura 29.5**

Ligações de hidrogênio entre bases complementares.

**Figura 29.6**

Temperaturas de fusão (T_f) de moléculas de DNA com diferentes composições de nucleotídeos. (Em um comprimento de onda de 260 nm, o DNA fita simples possui uma absorvância relativa maior do que o DNA fita dupla.)

podem refazer a dupla-hélice por um processo chamado de renaturação (ou reanelamento).

- Formas estruturais da dupla-hélice.** Existem três formas estruturais principais de DNA: a forma B, descrita por Watson e Crick em 1953, a forma A e a forma Z. A forma B é uma hélice espiralada para a direita, com dez resíduos em cada volta de 360° da hélice e com os planos das bases perpendiculares ao eixo helicoidal. Acredita-se que o DNA cromossômico consista principalmente em B-DNA (a Figura 29.7 ilustra um modelo de preenchimento do B-DNA). A forma A é produzida por uma desidratação moderada da forma B. Ela também é espiralada para a direita, mas existem 11 pares de bases por volta, e os planos dos pares de bases estão inclinados 20° em relação à posição perpendicular ao eixo helicoidal. A conformação encontrada nos híbridos DNA-RNA ou em regiões de fita dupla de RNA-RNA é, provavelmente, muito semelhante à forma A. O Z-DNA é uma hélice espiralada para a esquerda, que contém cerca de 12 pares de bases por volta (veja a Figura 29.7). (Nota: a estrutura do esqueleto de desoxirribose-fosfato é em “zigue-zague”, daí o nome “Z”-DNA.) Porções contendo Z-DNA podem ocorrer naturalmente em regiões de DNA com sequências alternadas de purinas e pirimidinas, por exemplo, poli GC. As transições entre as formas helicoidais B e Z do DNA podem desempenhar funções importantes na regulação da expressão gênica.

C. Moléculas de DNA lineares e circulares

Cada cromossomo no núcleo de um eucarioto contém uma longa molécula linear de DNA de fita dupla, ligada a uma mistura complexa de proteínas (histonas e outras, veja a p. 409) para formar a cromatina. Os eucariotos possuem moléculas de DNA circular nas mitocôndrias, assim como ocorre nos cloroplastos vegetais. Um organismo procariótico normalmente contém um único cromossomo circular de fita dupla, super-torcido. Cada cromossomo procariótico está associado a proteínas semelhantes a histonas que podem condensar o DNA para formar um nucleóide. Além disso, a maioria das espécies de bactérias também contém pequenas moléculas de DNA extracromossomais circulares, chamadas de plasmídeos. O DNA plasmidial carrega informação genética e sofre replicação, que pode ou não estar sincronizada com a divisão cromossômica.²



Plasmídeos podem carregar genes que conferem resistência a antibióticos para a bactéria hospedeira e podem facilitar a transferência de informação genética de uma bactéria para outra.

(Nota: o uso de plasmídeos como vetores na tecnologia do DNA recombinante é descrito no Capítulo 33.)



²Veja o Capítulo 7 em **Microbiologia Ilustrada**, para uma discussão sobre os plasmídeos.

III. ETAPAS NA SÍNTESE DO DNA PROCARIÓTICO

Quando as duas fitas do DNA de fita dupla são separadas, cada uma pode servir de molde para a replicação de uma nova fita complementar. Isso produz duas moléculas-filhas, cada uma com duas fitas de DNA de orientação antiparalela (veja a Figura 29.3). Esse processo é chamado de replicação semiconservativa, pois, embora o dúplex parental seja separado em duas metades (e, portanto, não seja “conservado” como entidade), cada fita parental individual permanece intacta nas duas novas duplas-hélices (Figura 29.8). As enzimas envolvidas no processo de replicação do DNA são polimerases que atuam segundo moldes preexistentes e que podem sintetizar a sequência complementar de cada fita com extraordinária fidelidade. As reações aqui descritas foram, em um primeiro momento, conhecidas a partir de estudos com a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*), e a descrição a seguir se refere ao processo observado em procariotos. A síntese de DNA nos organismos superiores não é tão bem compreendida, mas envolve os mesmos tipos de mecanismos. Nos dois casos, o início da replicação do DNA condiciona a célula a continuar o processo até que o genoma inteiro tenha sido replicado.

A. Separação das duas fitas complementares do DNA

Para que as duas fitas parentais de DNA dupla-fita sejam replicadas, elas precisam, em primeiro lugar, passar por um processo de separação (ou “fusão”), pelo menos em uma pequena região, pois a polimerase usa somente fsDNA como molde. Em organismos procarióticos, a replicação do DNA inicia em uma única e especial sequência nucleotídica – um sítio chamado origem da replicação (Figura 29.9A). (Nota: essa sequência é denominada de sequência consenso, pois a ordem dos nucleotídeos é essencialmente a mesma em cada sítio.) Este sítio inclui uma sequência curta, composta quase exclusivamente por pares de bases AT, o que facilita a fusão. Nos eucariotos, a replicação inicia em múltiplos sítios ao longo da hélice de DNA (Figura 29.9B). Possuir múltiplas origens de replicação fornece um mecanismo para replicar rapidamente moléculas de DNA eucarióticas de grande tamanho.

B. Formação da forquilha de replicação

À medida que as duas fitas se desenrolam e se separam, elas formam um “V”, onde ocorre a síntese ativa. Esta região é chamada de forquilha de replicação. Ela se move ao longo da molécula de DNA enquanto ocorre a síntese. A replicação de DNA de fita dupla é bidirecional – ou seja, as forquilhas de replicação movem-se em ambos os sentidos, partindo da origem, gerando uma “bolha” de replicação (veja a Figura 29.9).

1. **Proteínas necessárias para a separação das fitas de DNA.** O início da replicação do DNA requer o reconhecimento do sítio de origem da replicação por um grupo de proteínas que formam o complexo pré-iniciador. Essas proteínas são responsáveis por manter a separação das fitas parentais e por desenrolar a dupla-hélice à frente da forquilha de replicação que avança. Essas proteínas incluem:

- a. **Proteína DnaA.** A proteína *DnaA* liga-se a sequências nucleotídicas específicas na origem da replicação, induzindo a separação de pequenas regiões arranjadas em *tandem* (uma após a outra), ricas em pares de bases AT. Essa separação é dependente de ATP e resulta na separação das fitas, com formação de regiões localizadas de fsDNA.

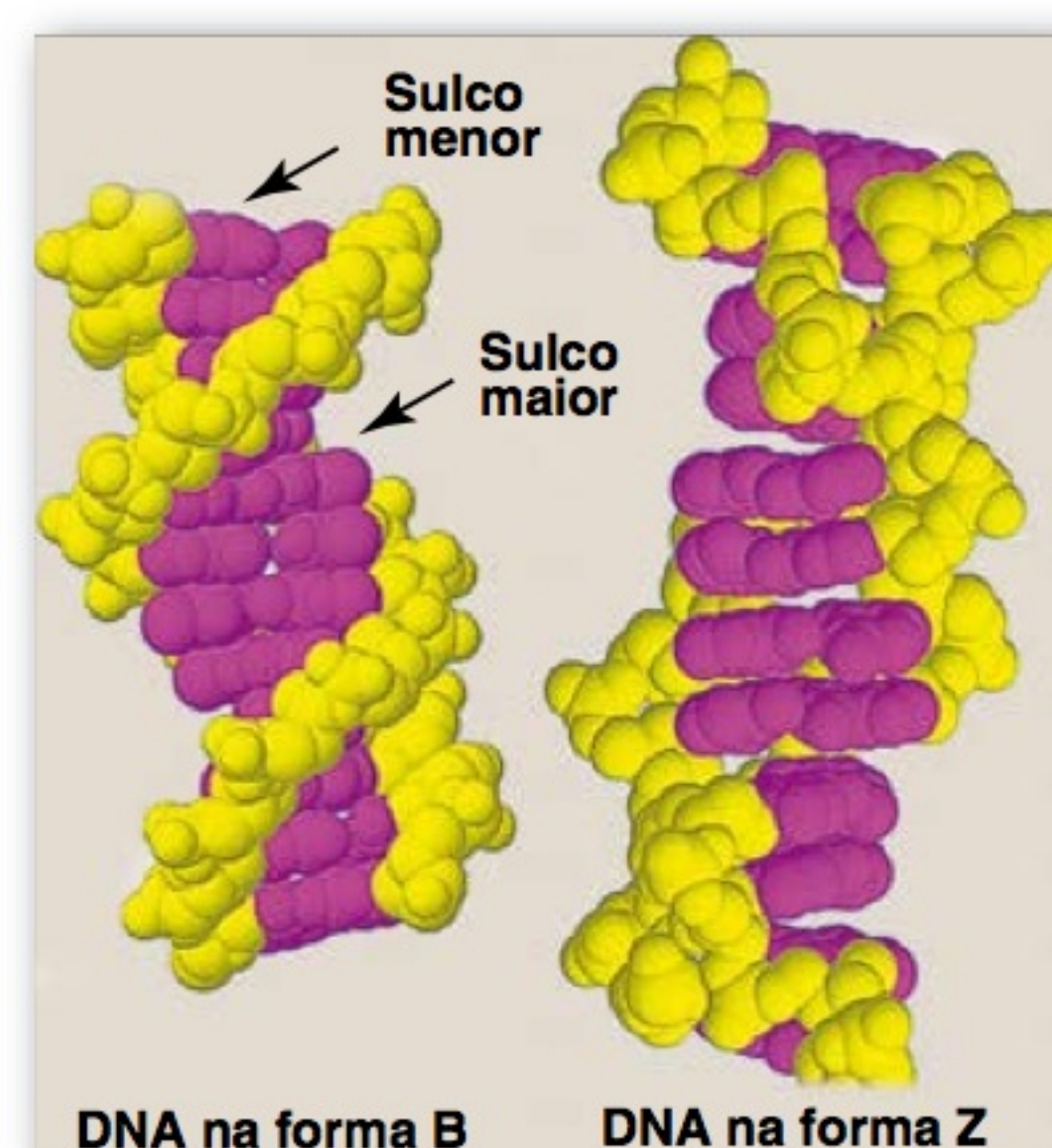


Figura 29.7
Estruturas de DNA-B e DNA-Z.

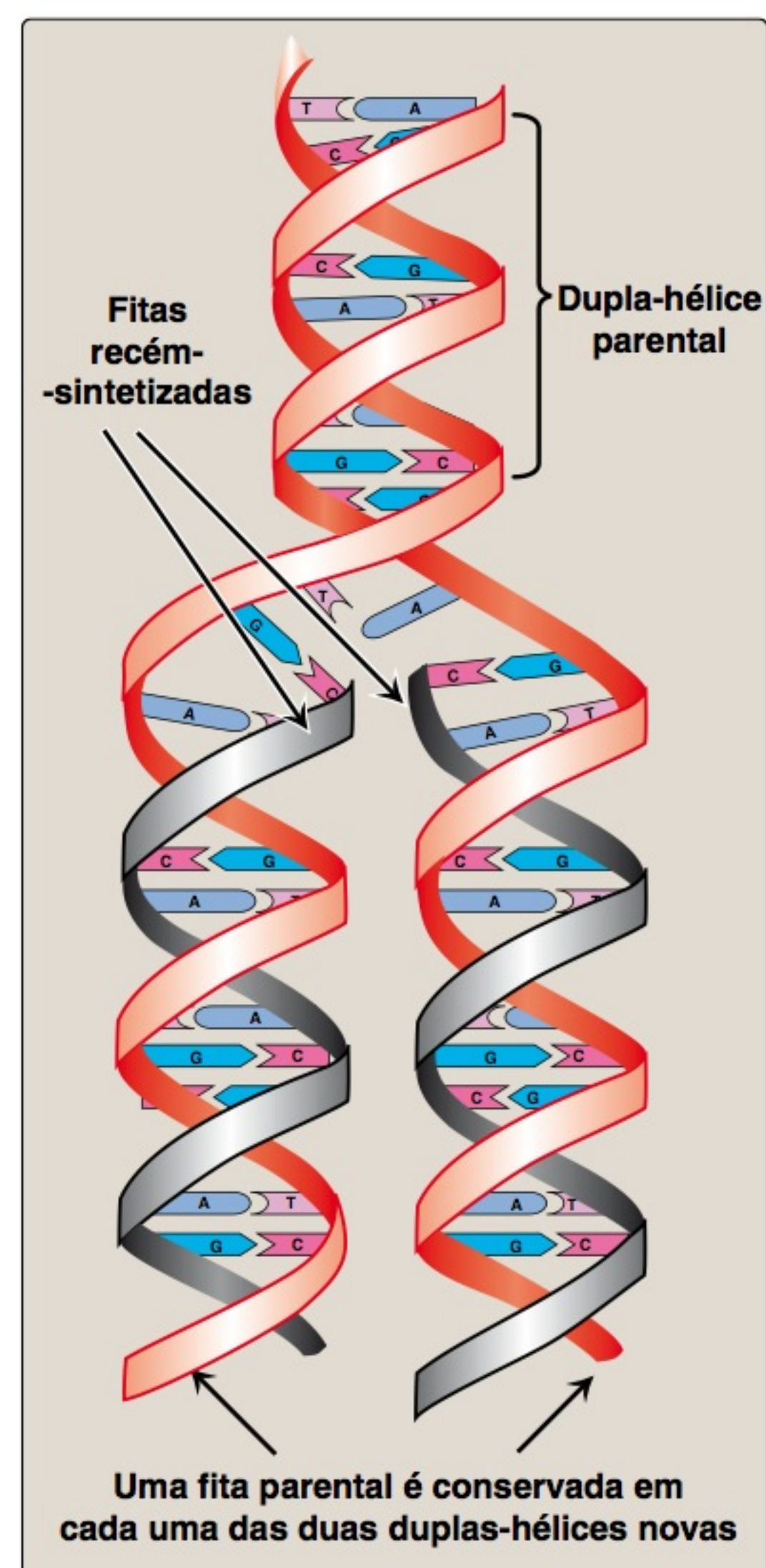
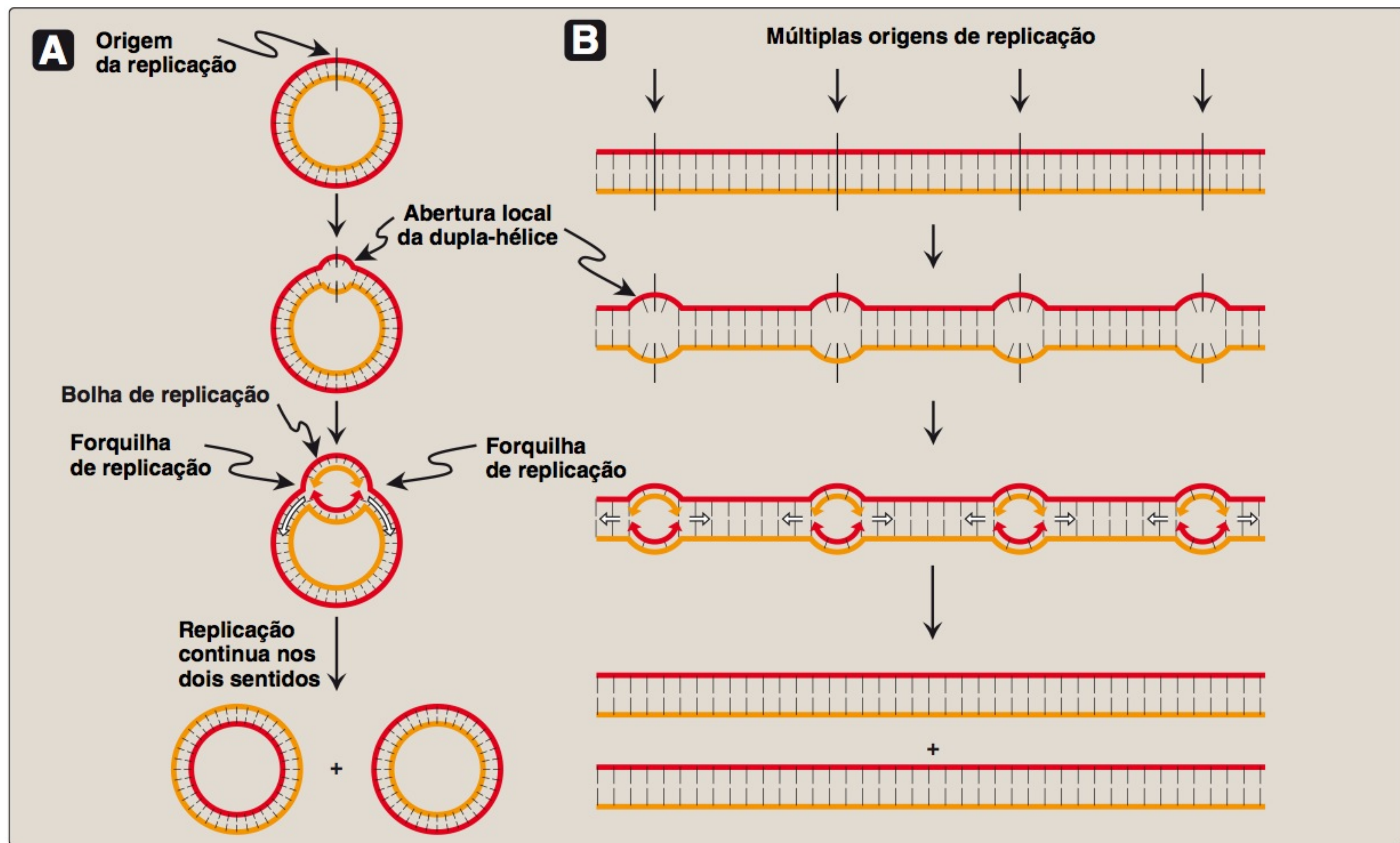
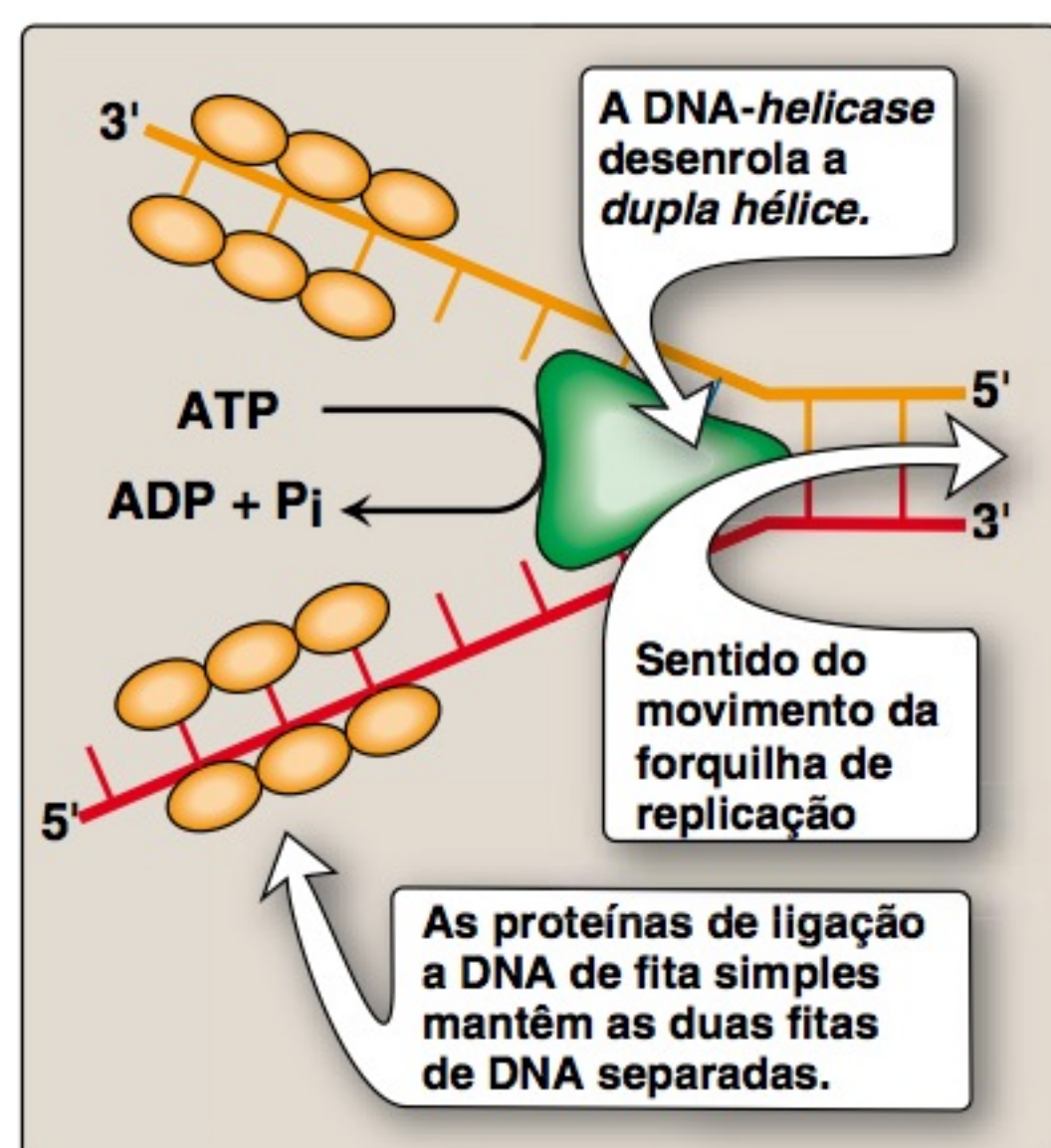


Figura 29.8
Replicação semiconservativa do DNA.

**Figura 29.9**

Replicação do DNA: origens e forquilha de replicação. A. Pequeno DNA circular procariótico. B. DNA eucariótico muito longo.

**Figura 29.10**

Proteínas responsáveis pela manutenção da separação das fitas parentais e desenrolamento da dupla-hélice à frente da forquilha de replicação em progressão.

b. DNA-helicases. Essas enzimas ligam-se ao DNA de fita simples próximo à forquilha de replicação; em seguida, se movem para a vizinhança, na região de fita dupla, forçando a separação das fitas – desenrolando, assim, a dupla-hélice. As *helicases* necessitam da energia fornecida pelo ATP (Figura 29.10). (Nota: a *DnaB* é a principal *helicase* de replicação da *E. coli*. A sua ligação ao DNA necessita da *DnaC*.)

c. Proteínas de ligação a DNA de fita simples (SSB, de *single-stranded DNA-binding proteins*). Essas proteínas ligam-se ao fsDNA gerado pelas helicases (veja a Figura 29.10). Elas ligam-se de forma cooperativa – ou seja, a ligação de uma molécula de proteína SSB facilita que moléculas adicionais da proteína SSB venham a ligar-se firmemente à fita de DNA. As proteínas SSB não são enzimas, porém servem para alterar o equilíbrio entre o fdDNA e o fsDNA, induzindo o predomínio das formas de fita simples. Essas proteínas não somente mantêm as duas fitas de DNA separadas na área da origem da replicação, fornecendo dessa forma o molde de fita simples necessário para as *polimerases*, mas também protegem o DNA das nucleases que clivam o DNA de fita simples.

2. Resolvendo o problema das supertorções. Assim que as duas fitas da dupla-hélice são separadas, surge um problema: o aparecimento de supertorções positivas (também chamadas de superenrolamentos) na região de DNA à frente da forquilha de replicação (Figura 29.11). O acúmulo de supertorções positivas interfere no desenrolamento adi-

cional da dupla-hélice. (Nota: a supertorção pode ser demonstrada segurando-se com firmeza uma extremidade de um cordão espiral de telefone enquanto se enrola a outra extremidade. Se o cordão for enrolado na direção do tensionamento das espirais, vai enrolar em volta de si mesmo no espaço e formar supertorções positivas. Se o cordão for torcido na direção do afrouxamento das espirais, vai enrolar-se na direção oposta e formar supertorções negativas.) Para resolver esse problema, existe um grupo de enzimas chamadas *DNA-topoisomerases*, responsáveis por remover as supertorções na hélice.

a. DNA-topoisomerases tipo I. Essas enzimas cortam de maneira reversível uma única fita na dupla-hélice. Elas apresentam as atividades de *nuclease* (corte das fitas) e de *ligase* (ligação das fitas). Essas enzimas não necessitam de ATP e parecem estocar a energia das ligações fosfodiéster que clivam, aparentemente reutilizando a energia para ligar novamente a fita (Figura 29.12). Cada vez que um “corte” transitório é criado em uma fita de DNA, a fita intacta de DNA é passada através da quebra antes da fita clivada ser ligada novamente, aliviando assim (“relaxando”) as supertorções acumuladas. As *topoisomerases tipo I* relaxam supertorções negativas (ou seja, aquelas com menor número de voltas na hélice em comparação ao DNA relaxado) na *E. coli*, e ambas as supertorções negativas e positivas (ou seja, aquelas com menor ou maior número de voltas da hélice que o DNA relaxado) nas células eucarióticas.

b. DNA-topoisomerases tipo II. Essas enzimas ligam-se fortemente à dupla-hélice do DNA e fazem cortes transitórios em ambas as fitas. A enzima induz, a seguir, um segundo estiramento da dupla-hélice do DNA para passá-la através da quebra e, por fim, refaz a ligação (Figura 29.13). Como resultado, ambas as supertorções, negativas e positivas, podem ser aliviadas por este processo dependente de ATP. As *topoisomerases tipo II* são também necessárias, tanto em procariotos como em eucariotos, para a separação das moléculas de DNA encadeadas após a replicação cromossômica. A *DNA-girase*, uma *topoisomerase tipo II* encontrada em bactérias e plantas, possui a propriedade incomum de ser capaz de introduzir supertorções negativas no DNA circular relaxado, usando energia da hidrólise do ATP. Isso facilita a replicação futura do DNA, pois as supertorções negativas neutralizam as supertorções positivas introduzidas durante a abertura da dupla-hélice. Esse mecanismo também auxilia na separação transitória das fitas, necessária durante a transcrição (veja a p. 417).

Agentes anticâncer, como o etoposide,³ atuam sobre a *topoisomerase tipo II* humana. A *DNA-girase* bacteriana é um alvo singular para um grupo de agentes antimicrobianos chamado quinolonas, como, por exemplo, a ciprofloxacina.⁴



³Veja o Capítulo 39 em *Farmacologia Ilustrada* para uma discussão do etoposide como um fármaco anticâncer.

⁴Veja o Capítulo 33 em *Farmacologia Ilustrada* para uma discussão das quinolonas.

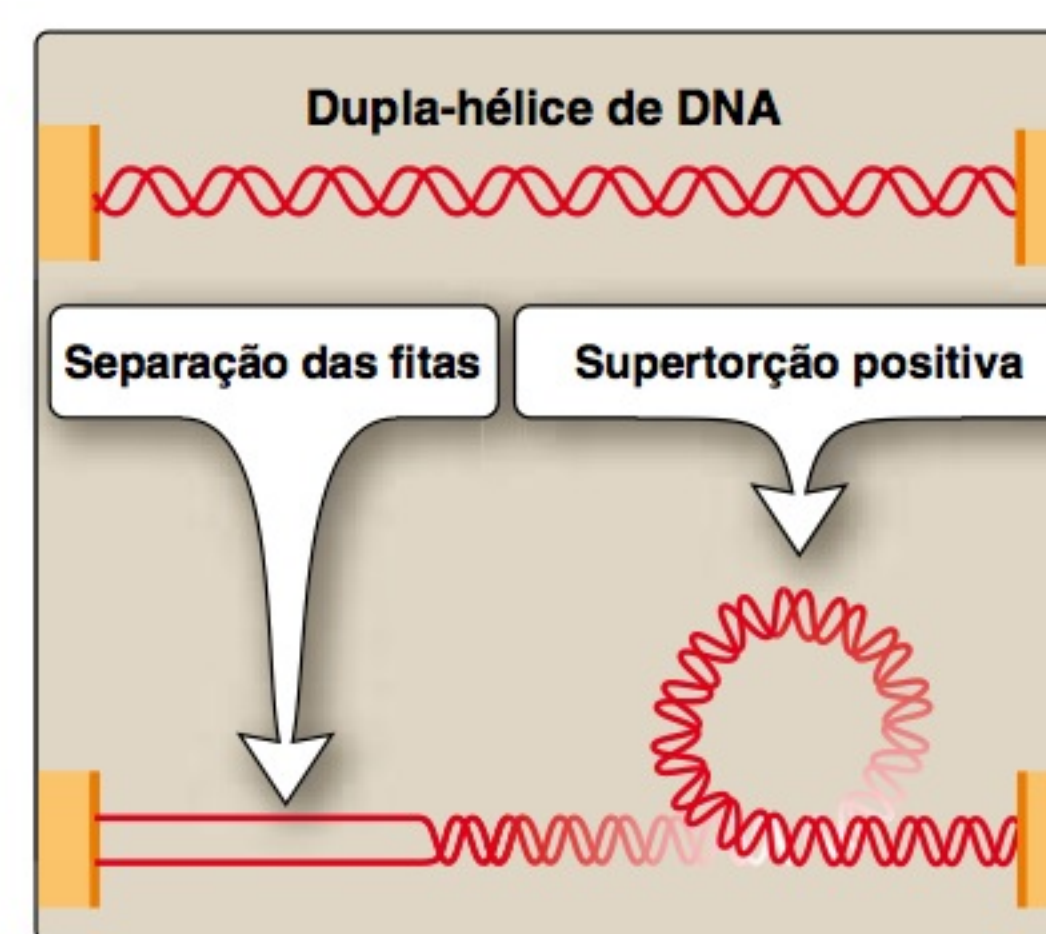


Figura 29.11

Supertorção positiva resultante da separação das fitas de DNA.

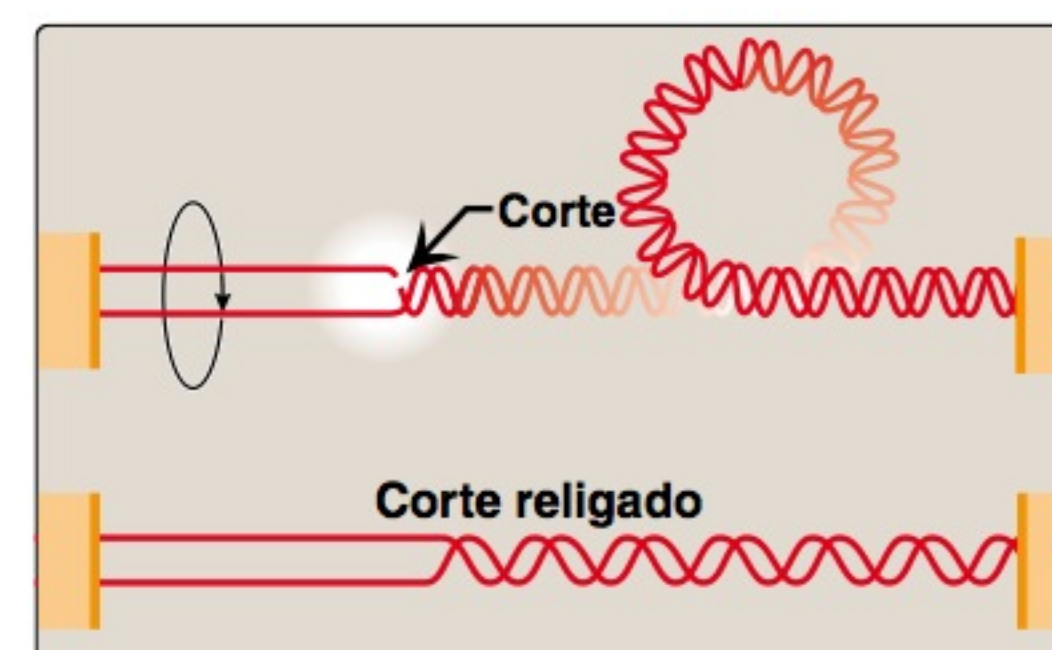


Figura 29.12

Ação da *DNA-topoisomerase tipo I*.

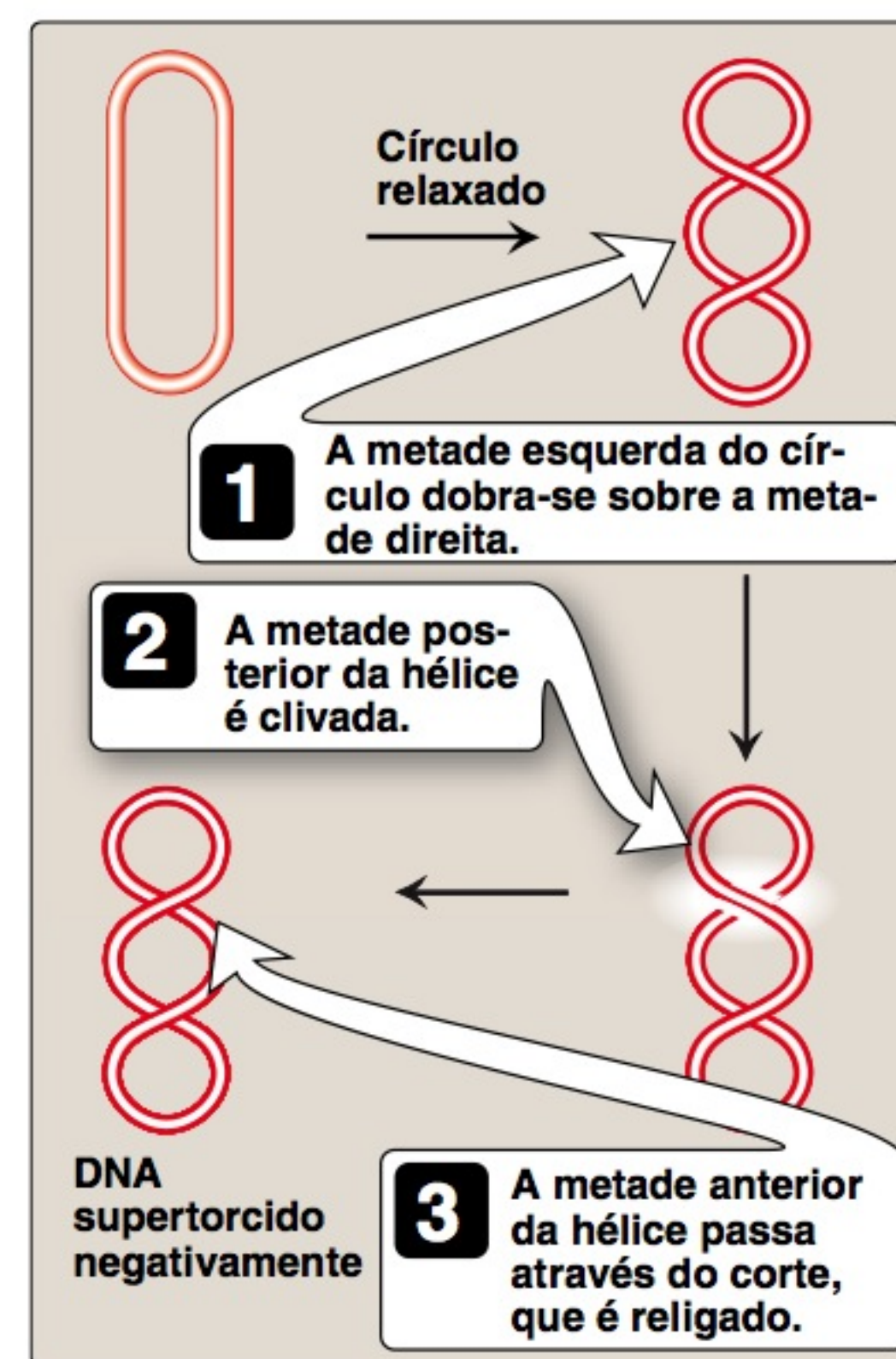


Figura 29.13

Ação da *DNA-topoisomerase tipo II*.

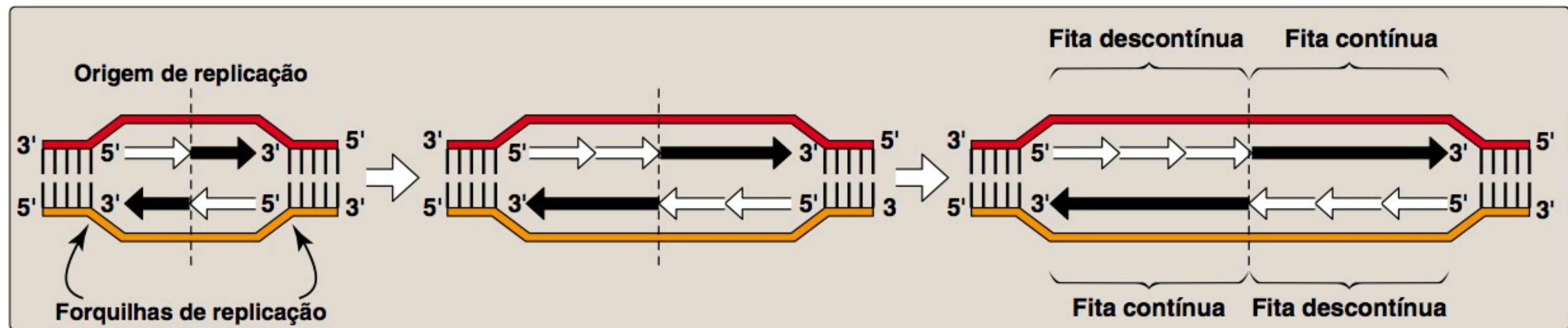


Figura 29.14
Síntese descontínua de DNA.

C. Direção da replicação do DNA

As *DNA-polimerases* responsáveis pela cópia dos moldes de DNA são capazes de “ler” as sequências nucleotídicas parentais apenas no sentido 3'→5', enquanto sintetizam as novas fitas de DNA no sentido 5'→3' (antiparalelo). Portanto, começando com uma dupla-hélice parental, as duas regiões recém-sintetizadas de cadeias nucleotídicas devem crescer em sentidos opostos – uma na direção 5'→3', rumo à forquilha de replicação, e a outra na direção 5'→3', oposta à forquilha de replicação (Figura 29.14). Esse feito é conseguido por um mecanismo que difere um pouco em cada fita.

1. **Fita contínua.** A fita que está sendo copiada no mesmo sentido do avanço da forquilha de replicação chama-se fita contínua e é sintetizada ininterruptamente.
2. **Fita descontínua.** A fita que está sendo copiada no sentido oposto ao do avanço da forquilha de replicação é sintetizada com interrupções, com pequenos fragmentos de DNA copiados próximos da forquilha de replicação. Essas pequenas regiões de DNA descontínuo, denominadas fragmentos de Okazaki, por fim são unidas para tornarem-se uma fita única e contínua. A nova fita de DNA produzida por esse mecanismo é denominada fita descontínua.

D. Iniciador de RNA

As *DNA-polimerases* não conseguem iniciar a síntese de uma fita complementar de DNA a partir de um molde completamente de fita simples. Em vez disso, essas enzimas necessitam de um iniciador de RNA – ou seja, uma pequena região de fita dupla que consiste em RNA pareado com o molde de DNA, com um grupo hidroxila livre na extremidade 3' da fita de RNA (Figura 29.15). Esse grupo hidroxila serve como o primeiro aceptor de um desoxinucleotídeo por ação da *DNA-polimerase*. (Nota: lembre-se de que a *glicogênio-sintase* também necessita de iniciador [veja a p. 126].)

1. **Primase.** Uma *RNA-polimerase* específica, denominada *primase* (*DnaG*), sintetiza essas pequenas regiões de RNA (aproximadamente 10 nucleotídeos de comprimento) complementares e antiparalelas ao molde de DNA. No híbrido dúplex resultante, o U no RNA pareia com o A no DNA. Como indicado na Figura 29.16, essas pequenas sequências de RNA são constantemente sintetizadas na forquilha de replicação na fita descontínua, mas somente uma sequência de RNA é necessária na origem da replicação na fita contínua. Os substratos para esse processo são os ribonucleosídeos-5'-trifosfato, e um pirofosfato é liberado a cada ribonucleosídeo

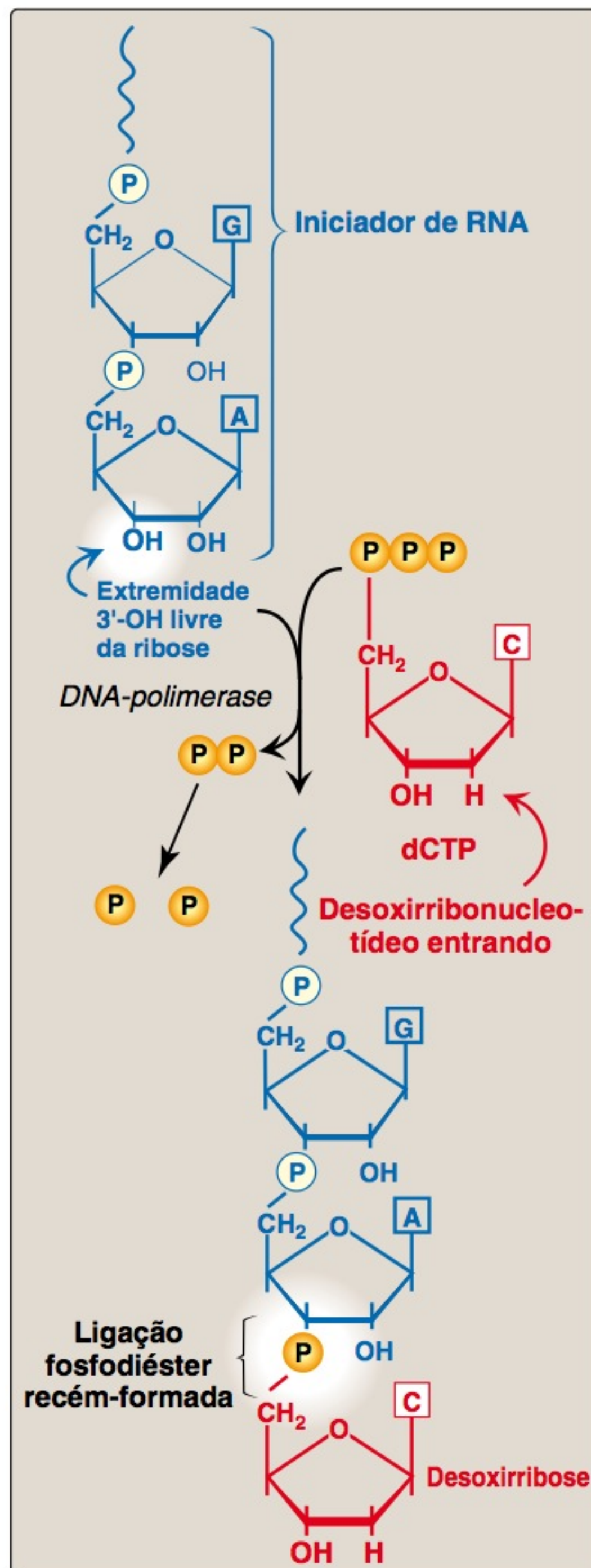
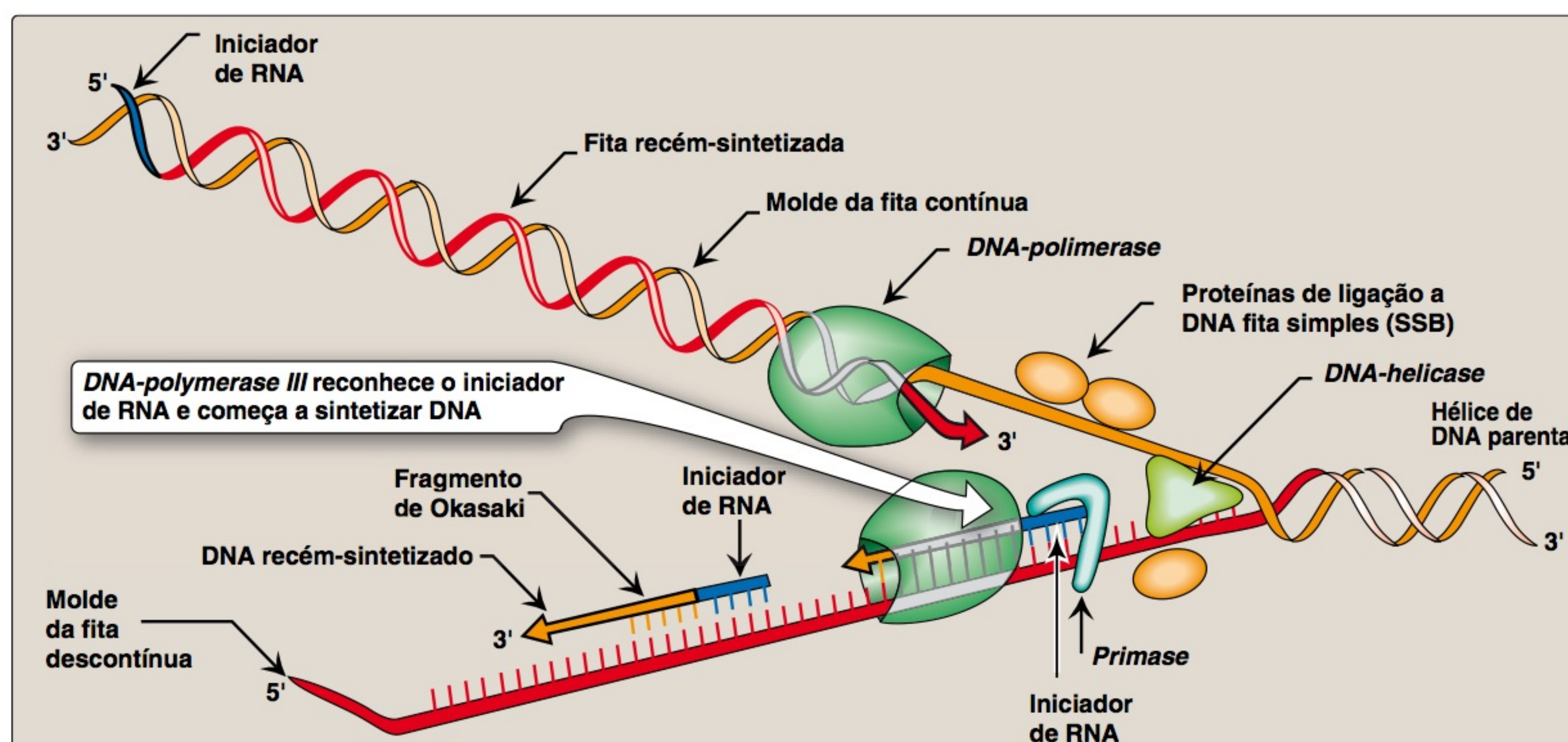


Figura 29.15
Uso de um iniciador de RNA para iniciar a síntese de DNA.


Figura 29.16

Alongamento das fitas contínua e descontínua.

monofosfato incorporado por meio da formação de uma ligação fosfodiéster 3'→5'. (Nota: o iniciador de RNA é removido posteriormente, como descrito na p. 405.)

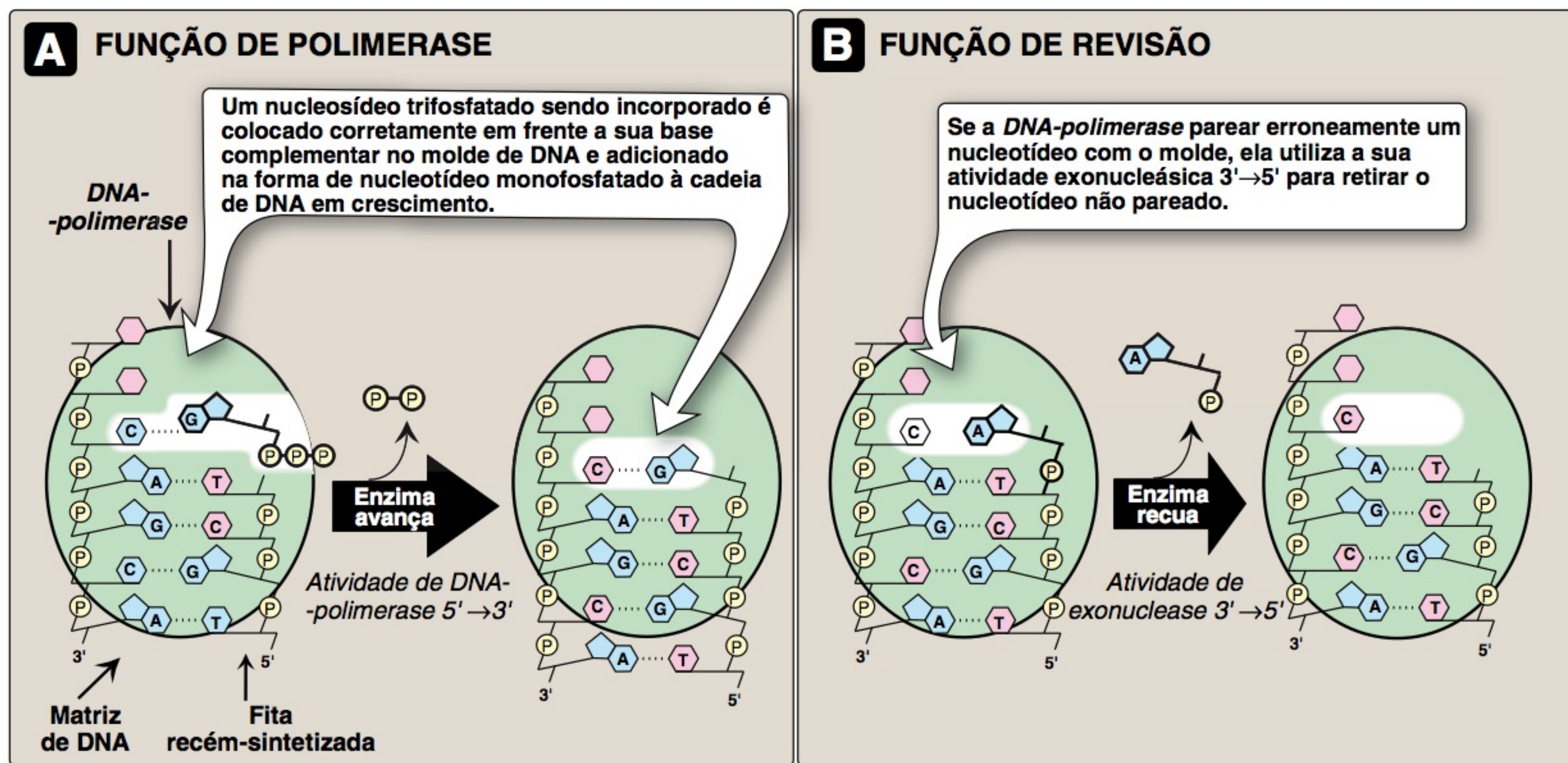
2. **Primossomo.** A adição da *primase* converte o complexo pré-iniciador necessário para a separação das fitas do DNA (veja a p. 399) em um primossomo. O primossomo produz o iniciador de RNA necessário para a síntese da fita contínua e inicia a formação dos fragmentos de Okazaki na síntese da fita descontínua. Assim como na síntese de DNA, a direção da síntese do iniciador é 5'→3'.

E. Alongamento da cadeia

As *DNA-polimerases* procarióticas e eucarióticas alongam uma fita nova de DNA pela adição de desoxirribonucleotídeos, um de cada vez, na extremidade 3' da cadeia em crescimento (veja a Figura 29.16). A sequência de nucleotídeos adicionados é ditada pela sequência de bases da fita-molde, com a qual são pareados os nucleotídeos adicionados.

1. **DNA-polimerase III.** O alongamento da cadeia de DNA é catalisado pela *DNA-polimerase III*. Utilizando o grupo hidroxila 3' do iniciador de RNA comoceptor do primeiro desoxirribonucleotídeo, a *DNA-polimerase III* começa a adicionar nucleotídeos ao longo do molde de fita simples que especifica a sequência de bases na cadeia recém-sintetizada. A *DNA-polimerase III* é uma enzima com alta processividade* – ou seja, permanece ligada à fita-molde enquanto se move ao longo dela, e não precisa se desligar e ligar novamente ao adicionar cada novo nucleotídeo. Essa característica da *DNA-polimerase III* resulta de um anel formado por sua subunidade β , que circunda e se move ao longo da fita-molde do DNA, servindo assim como um grampo deslizante no DNA. A nova fita cresce na

* N. de R.T. O número médio de nucleotídeos adicionados antes que a polimerase dissocie-se define a sua processividade.

**Figura 29.17**

A atividade de *exonuclease 3' → 5'* possibilita que a *DNA-polimerase III* possa “editar” a fita de DNA recém-sintetizada.

direção 5' → 3', antiparalela à fita parental (veja a Figura 29.16). Os substratos nucleotídicos utilizados são os desoxirribonucleosídeos-5'-trifosfato. Um pirofosfato (PP_i) é liberado a cada novo desoxinucleosídeo monofosfato adicionado à cadeia em crescimento (veja a Figura 29.15). A hidrólise de PP_i em $2P_i$ significa que um total de duas ligações de alta energia é usado para impulsionar a adição de cada desoxinucleotídeo.

A produção de PP_i com a subsequente hidrólise para $2P_i$, observada na síntese de DNA e RNA, é um tema comum em bioquímica. A remoção do produto PP_i impulsiona a reação no sentido de formação deste composto, tornando-a essencialmente irreversível.

Todos os quatro desoxirribonucleosídeos trifosfato (dATP, dTTP, dCTP e dGTP) devem estar presentes para ocorrer o alongamento do DNA. Se um dos quatro estiver em quantidade reduzida, a síntese de DNA será interrompida quando aquele nucleotídeo esgotar-se.

2. **Revisão de erros no DNA recém-sintetizado.** É extremamente importante para a sobrevivência de um organismo que a sequência do DNA seja replicada com o menor número possível de erros. Uma leitura errônea da sequência molde poderia levar a mutações deletérias, talvez letais. Para garantir a fidelidade da replicação, a *DNA-polimerase III* possui, além da sua atividade de *polimerase 5' → 3'*, uma atividade de “revisão” (*atividade de exonuclease 3' → 5'*, Figura 29.17). À medida que cada nucleotídeo é adicionado à cadeia, a *DNA-polimerase III* faz uma checagem para assegurar-se de que o nucleotídeo adicionado, de fato, combina corretamente com sua base complementar na fita-molde. Caso contrário, a atividade *exonuclease 3' → 5'* corrige o erro. (Nota: para sua atividade

de exonuclease, a enzima necessita de um pareamento de bases inapropriado na extremidade 3'-hidroxila e, portanto, não degrada sequências corretamente pareadas de nucleotídeos.) Por exemplo, se a base na fita-molde for uma citosina, e a enzima inserir erroneamente adenina em vez de guanina na nova cadeia, a atividade de *exonuclease 3'→5'* removerá hidroliticamente o nucleotídeo não pareado. A atividade *5'→3' polimerase* então coloca em seu lugar o nucleotídeo correto contendo guanina (veja a Figura 29.17). (Nota: a atividade exonucleásica de revisão necessita um movimento no sentido 3'→5', e não 5'→3', a exemplo da atividade da *polimerase*. Isso ocorre porque a excisão deve ser realizada no sentido inverso ao da síntese.)

F. A excisão dos iniciadores de RNA e sua substituição por DNA

A *DNA-polimerase III* continua a sintetizar DNA na fita descontínua até ser bloqueada pela proximidade de um iniciador de RNA. Quando isso ocorre, o RNA é retirado e a lacuna é preenchida pela *DNA-polimerase I*.

- 1. Atividade exonucleásica 5'→3'.** Além de possuir a atividade de *polimerase 5'→3'*, que sintetiza DNA, e a atividade de *exonuclease 3'→5'*, que corrige erros na cadeia de DNA recém-sintetizada, assim como a *DNA-polimerase III*, a *DNA-polimerase I* também possui atividade de *exonuclease 5'→3'*, capaz de remover hidroliticamente o iniciador de RNA. (Nota: Essas atividades são de exonucleases porque removem um nucleotídeo de cada vez a partir da extremidade da cadeia de DNA, em vez de clivá-lo internamente, como fazem as endonucleases [Figura 29.18].) Inicialmente, a *DNA-polimerase I* localiza o espaço ("corte") entre a extremidade 3' do DNA recém-sintetizado pela *DNA-polimerase III* e a extremidade 5' do iniciador de RNA adjacente. A seguir, a *DNA-polimerase I* remove hidroliticamente os nucleotídeos de RNA "à sua frente", movendo-se no sentido 5'→3' (atividade *exonucleásica 5'→3'*). Enquanto remove o RNA, a *DNA-polimerase I* o substitui com desoxirribonucleotídeos, sintetizando DNA no sentido 5'→3' (atividade *polimerásica 5'→3'*). Enquanto sintetiza o DNA, ela também "revisa" a nova cadeia, usando a atividade *exonucleásica 3'→5'*. Esse processo de remoção/síntese/revisão continua, um nucleotídeo de cada vez, até que o iniciador de RNA seja totalmente degradado e a lacuna seja preenchida com DNA (Figura 29.19).

- 2. Diferenças entre as exonucleases 5'→3' e 3'→5'.** A atividade de *exonuclease 5'→3'* da *DNA-polimerase I* difere da *exonuclease 3'→5'* utilizada por ambas, *DNA-polimerases I* e *III*, por duas importantes razões. Primeiro, a *exonuclease 5'→3'* pode remover um nucleotídeo de cada vez da região de DNA apropriadamente pareada. Os nucleotídeos que ela remove podem ser tanto ribonucleotídeos como desoxirribonucleotídeos. Segundo, a *exonuclease 5'→3'* pode também remover grupos de nucleotídeos alterados no sentido 5'→3', removendo de 1 a 10 nucleotídeos de cada vez. Essa capacidade é importante no reparo de alguns tipos de dano ao DNA.

G. DNA-ligase

A ligação fosfodiéster final entre o grupo 5'-fosfato na cadeia de DNA sintetizada pela *DNA-polimerase III* e o grupo 3'-hidroxila na cadeia produzida pela *DNA-polimerase I* é catalisada pela *DNA-ligase* (Figura 29.20). A

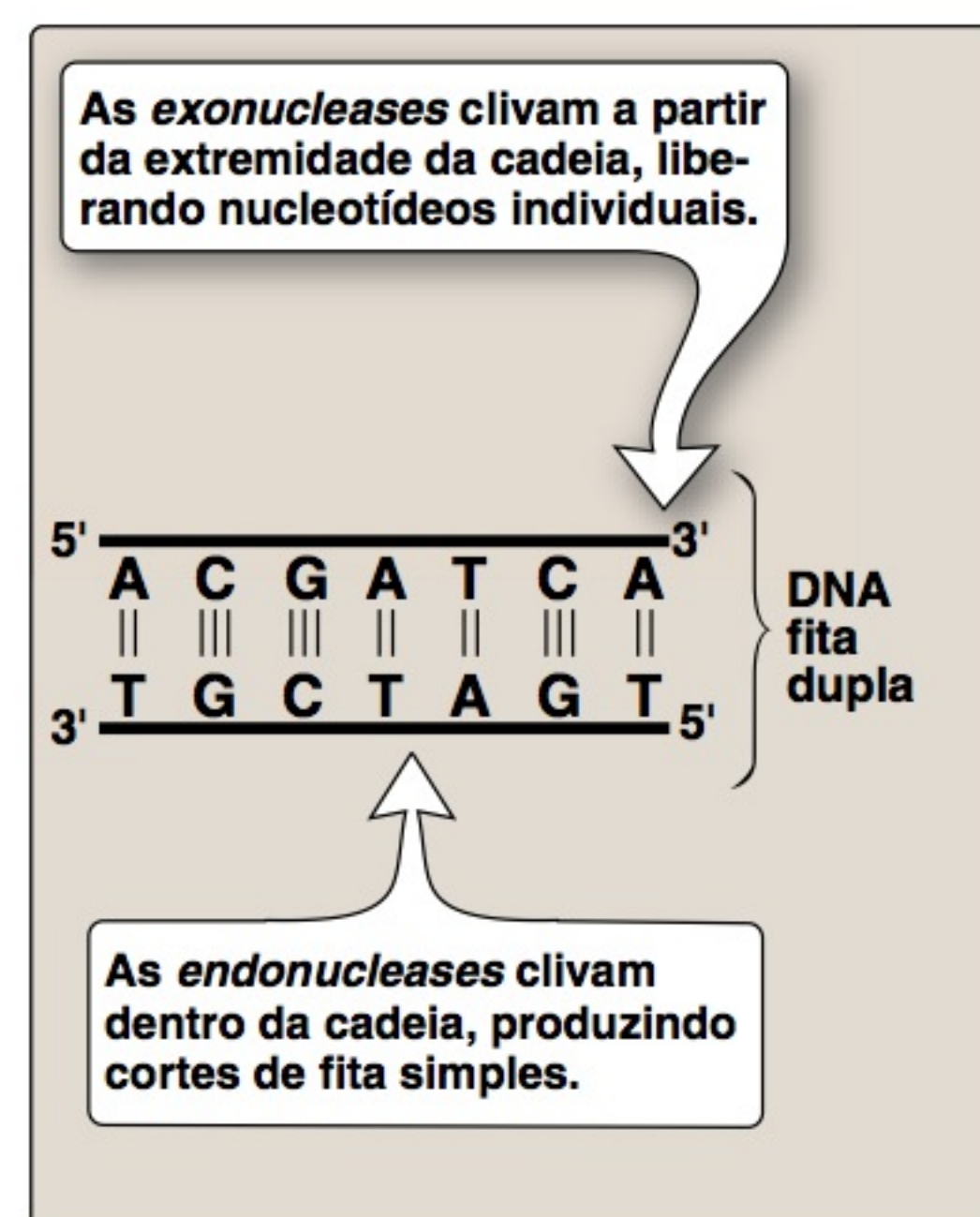


Figura 29.18

Atividade de *endonuclease* versus *exonuclease*.

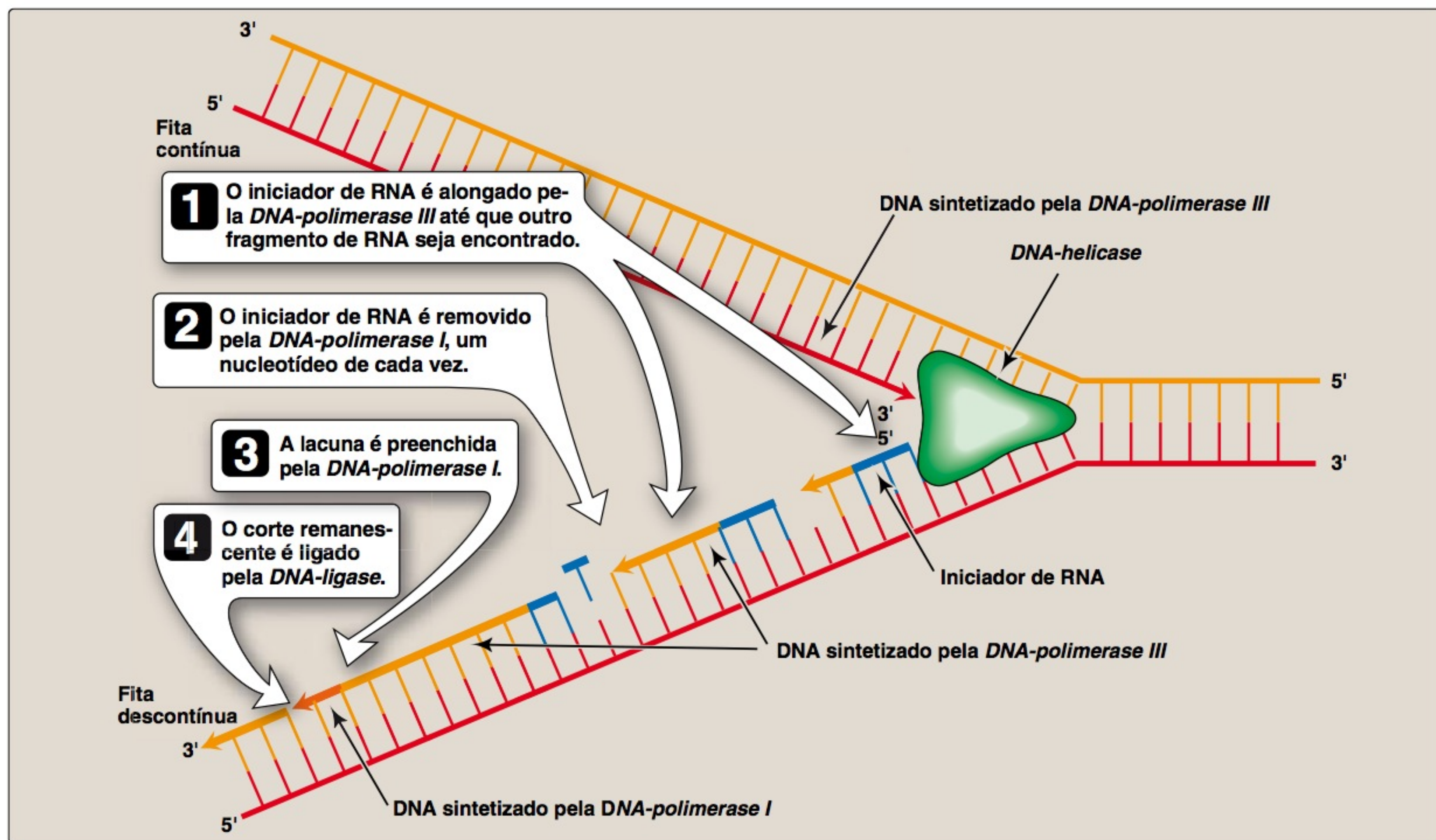


Figura 29.19

Remoção do iniciador de RNA e preenchimento das “lacunas” resultantes pela *DNA-polimerase I*.

junção dessas duas regiões de DNA necessita de energia, fornecida, na maioria dos organismos, pela clivagem de ATP em AMP + PP_i.

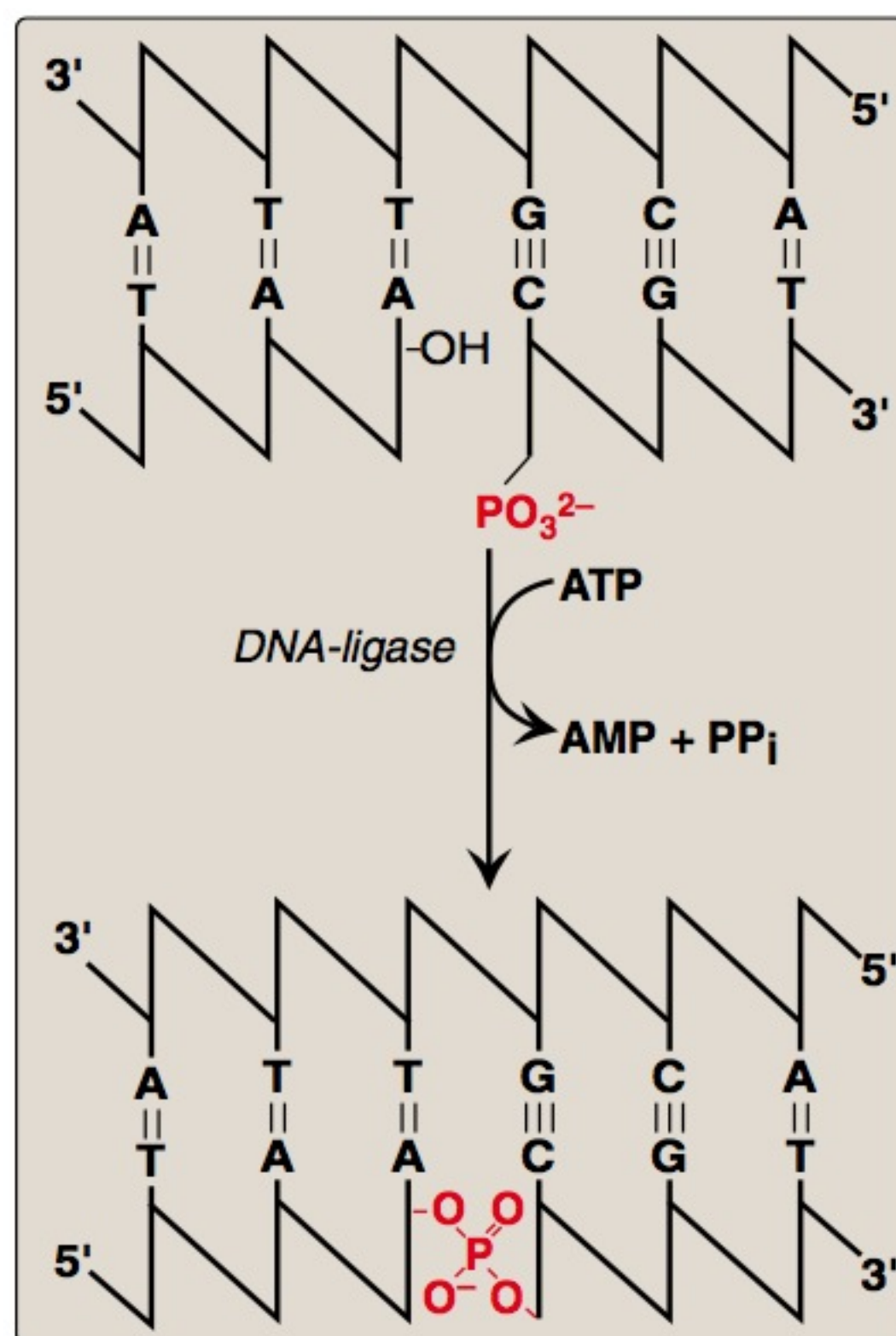


Figura 29.20

Formação de uma ligação fosfodiéster pela *DNA-ligase* eucariótica. (Nota: o AMP liga-se à *ligase*, sendo após transferido ao fosfato 5' na posição onde está o corte no DNA e finalmente é liberado.)

IV. REPLICAÇÃO DO DNA EUCARIÓTICO

O processo de replicação do DNA eucariótico segue de maneira muito semelhante à síntese de DNA procariótico. Algumas diferenças já foram discutidas, como as múltiplas origens de replicação nas células eucarióticas em comparação às origens de replicação únicas em procariotos. Proteínas eucarióticas de ligação à DNA de fita simples e *DNA-helicases* dependentes de ATP têm sido identificadas, com funções análogas às das enzimas procarióticas discutidas anteriormente. Por outro lado, os iniciadores de RNA são removidos pela *RNase H* e pela *FEN1* e não por uma *DNA-polimerase*.

A. O ciclo celular eucariótico

Os eventos que envolvem a replicação do DNA eucariótico e a divisão celular (mitose) são coordenados para produzir o ciclo celular (Figura 29.21). O período que precede a replicação é chamado de fase G₁ (Gap1). A replicação do DNA ocorre durante a fase S (síntese). Após a síntese de DNA, existe outro período (fase G₂ ou Gap2) antes da mitose (M). No caso das células que pararam de se dividir, assim como os neurônios maduros, diz-se que elas saíram do ciclo celular e entraram na fase G₀. As células podem deixar a fase G₀ e retornar ao início da fase G₁ para recomençar as divisões. (Nota: o ciclo celular é controlado em uma série de “pontos de checagem” que impedem a célula de entrar na próxima fase do ciclo antes de completar a fase anterior. Duas classes-chave de proteínas que controlam o progresso da célula através do ciclo celular são as ciclinas e as *cinases dependentes de ciclinas* [Cdk].)

B. DNA-polimerases eucarióticas

Pelo menos cinco *DNA-polimerases* eucarióticas, enzimas-chave desse processo, foram identificadas e categorizadas de acordo com os pesos moleculares, a localização celular, a sensibilidade a inibidores, assim como os moldes ou os substratos em que atuam. Elas são designadas por letras gregas, em vez de números romanos (Figura 29.22).

1. **Pol α .** A enzima *pol α* contém múltiplas subunidades. Uma subunidade possui a atividade de primase, que inicia a síntese na fita contínua e também inicia cada fragmento de Okazaki na fita descontínua. A subunidade primase sintetiza um pequeno iniciador de RNA, o qual é alongado pela atividade de *polimerase 5'→3'* da *pol α* , gerando um pequeno pedaço de DNA.
2. **Pol ϵ e pol δ .** Acredita-se que a *pol ϵ* seja recrutada para completar a síntese do DNA na fita contínua, ao passo que a *pol δ* alonga os fragmentos de Okazaki da fita descontínua, cada uma delas utilizando a sua atividade *exonucleásica 3'→5'* para revisar o DNA recém-sintetizado. (Nota: a *DNA-polimerase ϵ* associa-se à proteína antígeno nuclear de proliferação celular, que serve como grampo deslizante no DNA, de forma muito semelhante à subunidade β da *DNA-polimerase III* de *E. coli*, garantindo assim alta processividade.)
3. **Pol β e pol γ .** A *pol β* está envolvida no “preenchimento de lacunas” no reparo de DNA (veja a seguir). A *pol γ* replica o DNA mitocondrial.

C. Telômeros

Telômeros são complexos de DNA não codificante e proteínas, localizados nas extremidades dos cromossomos lineares. Eles mantêm a integridade estrutural do cromossomo, impedindo o ataque de *nucleases* e permitindo que sistemas de reparo distingam uma extremidade verdadeira de uma quebra no fdDNA. Nos humanos, o DNA telomérico consiste em milhares de repetições em *tandem* de uma sequência hexamérica não codificante, AG3T2, pareadas com uma cadeia complementar de Cs e As. A fita rica em GT é mais longa que o seu complemento CA, deixando uma região de fsDNA na extremidade 3' com algumas poucas centenas de nucleotídeos de extensão. Acredita-se que a região de fita simples dobra-se sobre si mesma, formando uma estrutura em forma de alça estabilizada por proteínas.

1. **Encurtamento dos telômeros.** As células eucarióticas deparam-se com um problema especial na replicação das extremidades de suas moléculas de DNA lineares. Após a remoção do iniciador de RNA da extremidade 5' final da fita descontínua, não existe maneira de preencher a lacuna remanescente com DNA. Consequentemente, na maioria das células somáticas humanas normais, os telômeros encurtam a cada divisão celular sucessiva. Uma vez que os telômeros tenham encurtado além de um comprimento crítico, a célula não é mais capaz de dividir-se e é considerada senescente. Nas células germinativas e em outras células-tronco, assim como nas células cancerosas, os telômeros não encurtam e as células não entram em senescência. Isso é o resultado da presença de uma ribonucleoproteína, a telomerase, que mantém o comprimento telomérico nessas células.
2. **Telomerase.** Esse complexo contém uma proteína que atua como *transcriptase reversa* e um pequeno pedaço de RNA, que atua como

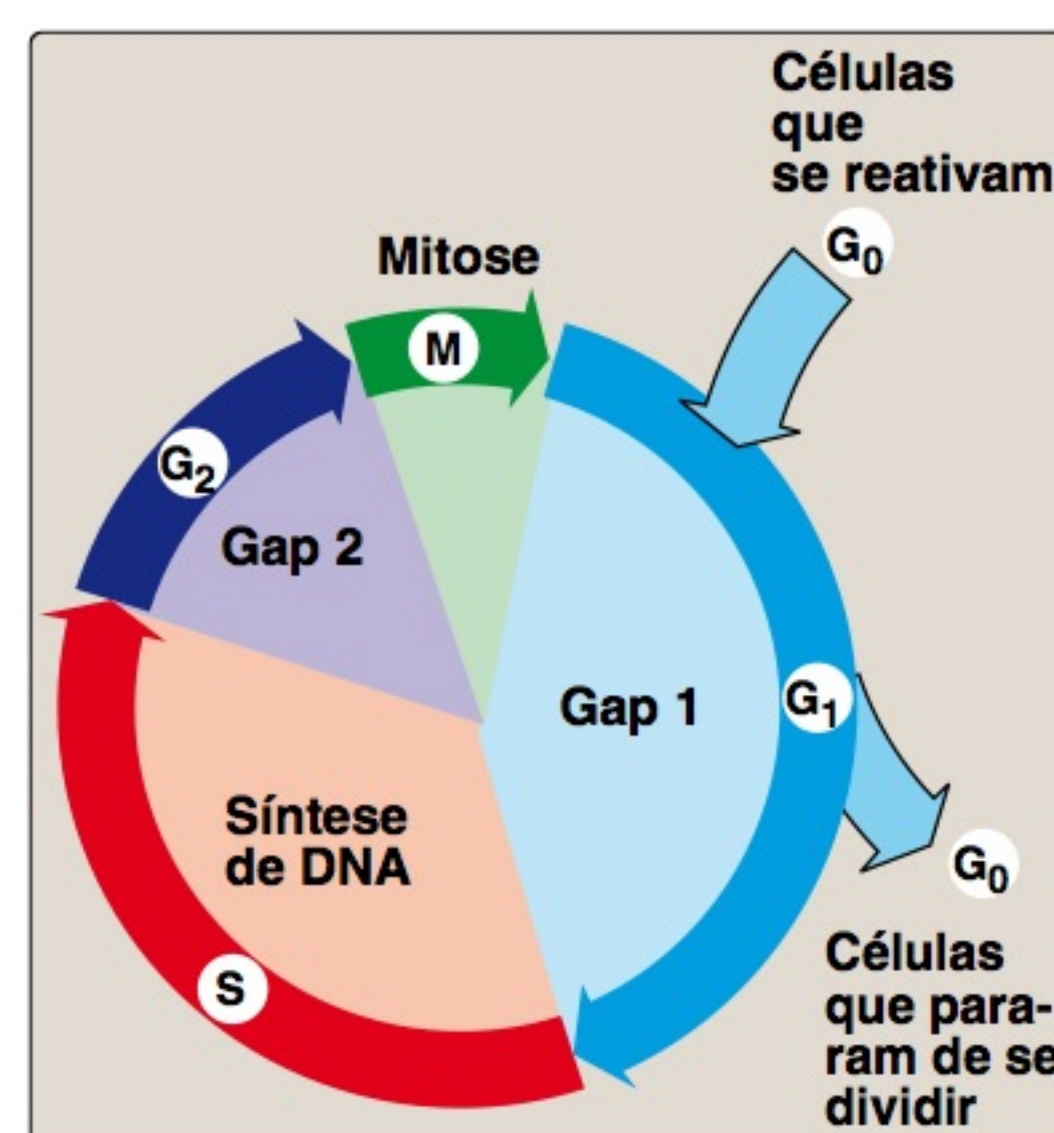


Figura 29.21

O ciclo celular eucariótico.

POLIMERASE	FUNÇÃO	EDIÇÃO*
<i>Pol α</i> (alfa)	● Contém primase ● Inicia a síntese de DNA	—
<i>Pol β</i> (beta)	● Reparo	—
<i>Pol γ</i> (gama)	● Replica o DNA mitocondrial	+
<i>Pol δ</i> (delta)	● Acredita-se que alongue os fragmentos de Okazaki da fita descontínua	+
<i>Pol ϵ</i> (épsilon)	● Acredita-se que alongue a fita contínua	+

Figura 29.22

Atividades das *DNA-polimerases* de eucariotos (*pols*). *Atividade de exonuclease 3'→5'.

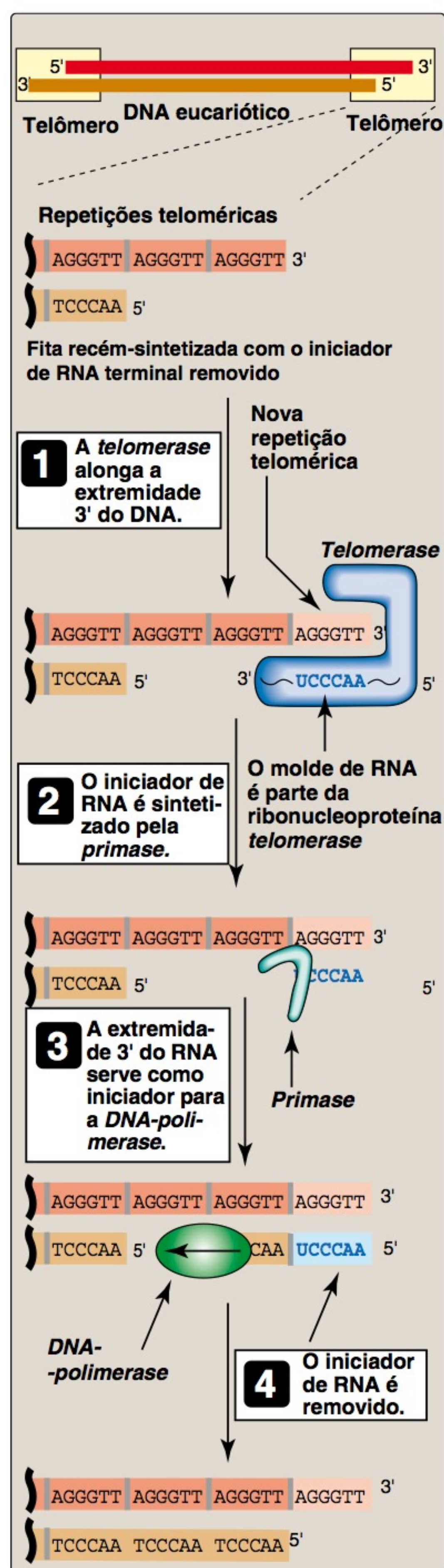


Figura 29.23

Mecanismo de ação da telomerase.

molde. O molde de RNA rico em CA pareia-se com a extremidade 3' do DNA telomérico de fita simples, rico em GT (Figura 29.23). A *transcriptase reversa* utiliza o molde de RNA para sintetizar DNA na direção usual 5'→3', estendendo a já maior extremidade 3'. A telomerase transloca-se então para a extremidade recém-sintetizada, e o processo é repetido. Uma vez que a fita rica em GT tenha sido aumentada, a *primase* pode utilizá-la como molde para sintetizar um iniciador de RNA. O iniciador de RNA é alongado pela *DNA-polimerase* e o iniciador é removido.

Os telômeros podem ser considerados “relógios mitóticos”: o seu comprimento na maior parte das células está inversamente relacionado com o número de vezes que as células sofreram divisão. O estudo dos telômeros está proporcionando compreensão acerca da biologia do envelhecimento e do câncer.

D. Transcriptases reversas

As transcriptases reversas, assim como vimos em relação às telomerasas, são *DNA-polimerases* direcionadas por RNA. Uma transcriptase reversa está envolvida na replicação dos retrovírus, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV).⁵ Esses vírus carregam seu genoma na forma de moléculas de fsRNA. Após a infecção de uma célula hospedeira, a enzima viral – *transcriptase reversa* – usa o RNA viral como molde para a síntese 5'→3' do DNA viral, que se torna então integrado aos cromossomos do hospedeiro. A atividade de *transcriptase reversa* é observada também nos transpósons, elementos de DNA que podem mover-se pelo genoma (veja a p. 461). Nos eucariotos, tais elementos são transcritos para RNA, o RNA é utilizado como molde para a síntese de DNA por uma *transcriptase reversa* codificada pelo transpósion, e o DNA é inserido ao acaso no genoma. (Nota: transpósions que envolvem um intermediário de RNA são chamados de retrotranspósions ou retropósions.)

E. Inibição da síntese de DNA por análogos de nucleosídeos

O crescimento da cadeia de DNA pode ser bloqueado pela incorporação de certos análogos de nucleosídeos modificados na porção açúcar do nucleosídeo (Figura 29.24).⁶ Por exemplo, a remoção do grupo hidroxila do carbono 3' do anel de desoxirribose, como na 2',3'-didesoxi-inosina (didanosina, também conhecida como ddl), ou a conversão de desoxirribose em outro açúcar, como na arabinose, impede que o alongamento da cadeia prossiga. Bloqueando a replicação do DNA, esses compostos diminuem a divisão de células e vírus que crescem rapidamente. Por exemplo, a citosina-arabinosídeo (citarabina, ou araC) tem sido usada na quimioterapia anticâncer, ao passo que a adenina-arabinosídeo (vidarabina, ou araA) é um agente antiviral. A modificação química da porção açúcar, observada na zidovudina (AZT), alcança o mesmo objetivo de terminação do alongamento da cadeia de DNA. (Nota: esses fármacos são normalmente fornecidos como nucleosídeos, convertidos posteriormente em nucleotídeos ativos por enzimas de “salvação” celulares [veja a p. 296].)



⁵Veja o Capítulo 38 em **Microbiologia Ilustrada** para uma discussão acerca dos retrovírus.

⁶Veja o Capítulo 38 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca de análogos de nucleosídeos.

V. ORGANIZAÇÃO DO DNA EUCARIÓTICO

Uma célula humana típica contém 46 cromossomos, cujo DNA total tem aproximadamente um metro de comprimento! É difícil imaginar como uma quantidade tão grande de material genético pode ser efetivamente empacotada em um volume do tamanho de um núcleo celular, de maneira que possa ser eficientemente replicada e sua informação genética expressa. Para isso acontecer, é necessária a interação do DNA com um grande número de proteínas, cada uma das quais desempenhando uma função específica no empacotamento ordenado dessas longas moléculas de DNA. O DNA eucariótico está associado a proteínas básicas fortemente ligadas, chamadas de histonas. Elas servem para ordenar o DNA em unidades estruturais básicas, os nucleossomos, que se assemelham a contas em um colar. Os nucleossomos, por sua vez, estão arranjados em estruturas de complexidade cada vez maior, que organizam e condensam as longas moléculas do DNA nos cromossomos, que podem ser segregados durante a divisão celular. (Nota: o complexo de DNA e proteínas encontrado dentro dos núcleos das células eucarióticas é chamado de cromatina.)

A. As histonas e a formação dos nucleossomos

Existem cinco tipos de histonas: H1, H2A, H2B, H3 e H4. Essas pequenas proteínas estão carregadas positivamente em pH fisiológico, como resultado do seu alto conteúdo de lisina e arginina. Devido a sua carga positiva, elas formam ligações iônicas com o DNA carregado negativamente. As histonas, juntamente com íons positivamente carregados, como o Mg^{2+} , ajudam a neutralizar os grupos fosfato do DNA, carregados negativamente.

- 1. Nucleossomos.** As histonas H2A, H2B, H3 e H4 contribuem cada qual com duas moléculas para formar o núcleo estrutural das “contas” nucleossômicas individuais. Ao redor desse núcleo, um segmento de DNA de dupla-hélice está enrolado aproximadamente duas vezes, formando uma hélice superenrolada negativamente (Figura 29.25). (Nota: as extremidades N-terminais dessas histonas podem ser acetiladas, metiladas ou fosforiladas. Essas modificações covalentes reversíveis podem influenciar a força com que as histonas se ligam ao DNA, afetando dessa forma a expressão de genes específicos [veja a p. 422].) Nucleossomos vizinhos são unidos por um DNA “ligante” de aproximadamente 50 pares de bases de comprimento. A histona H1, que inclui várias espécies relacionadas, não é encontrada no centro nucleossômico, mas sim ligada à cadeia de DNA ligante, entre as contas nucleossômicas. A H1 é a histona com maior especificidade quanto ao tecido e quanto à espécie. Ela facilita o empacotamento dos nucleossomos em estruturas mais compactas.
- 2. Níveis mais elevados de organização.** Os nucleossomos podem ser empacotados mais firmemente, formando um polinucleossomo (também chamado de nucleofilamento). Essa estrutura assume a forma de corda, frequentemente referida como fibra de 30 nm. A fibra é organizada em alças ancoradas por um suporte nuclear com várias proteínas. Níveis adicionais de organização levam à estrutura cromossômica final (Figura 29.26).

B. Destino dos nucleossomos durante a replicação do DNA

Para replicar-se, a cromatina altamente estruturada e compactada precisa ser relaxada. Embora os nucleossomos sejam deslocados, a dissociação entre o centro nucleossômico e o DNA é incompleta, com todas

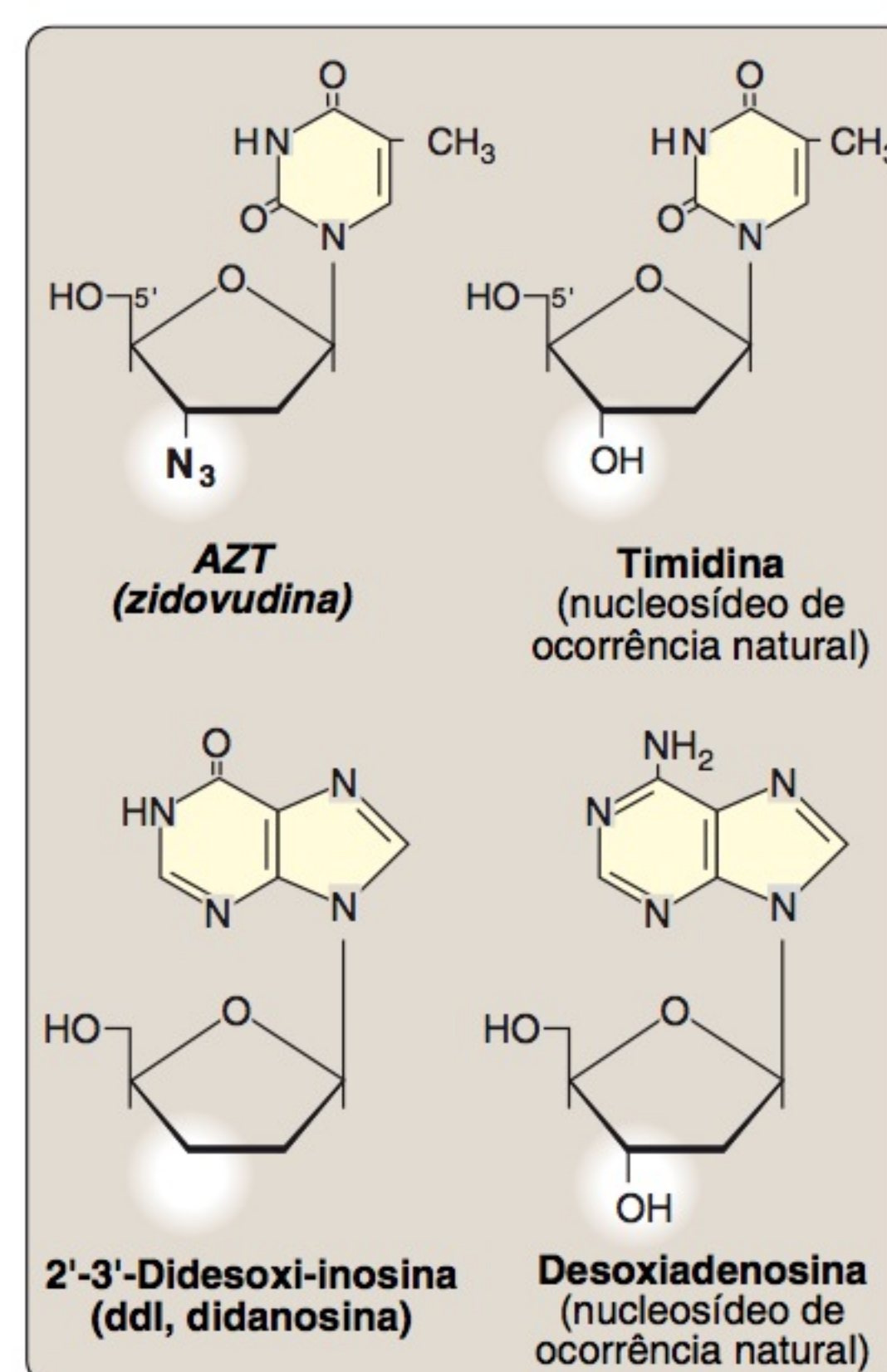


Figura 29.24

Exemplos de análogos de nucleosídeos que não possuem um grupamento 3'-hidroxila. (Nota: A ddi é convertida em sua forma ativa [ddATP].)

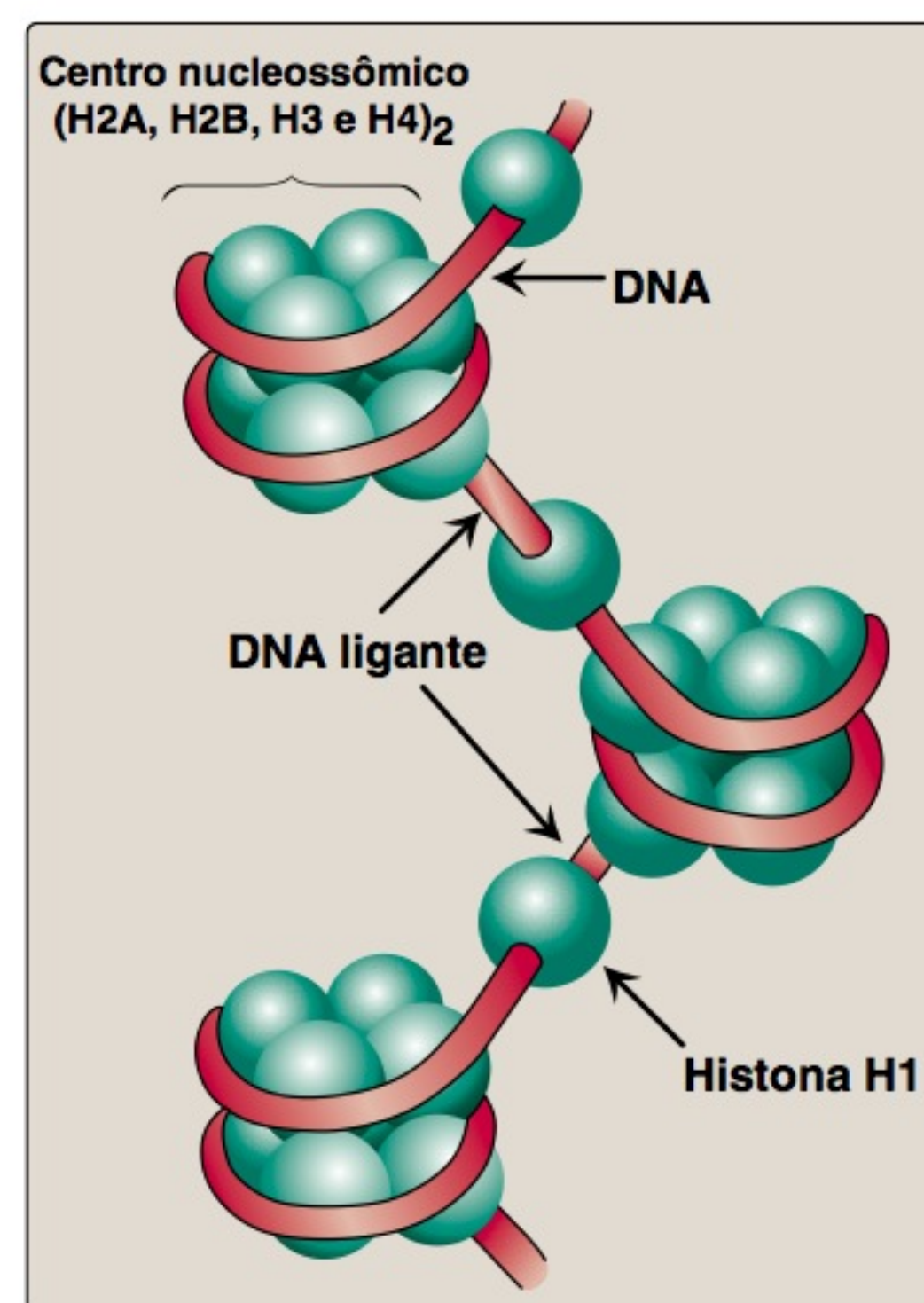
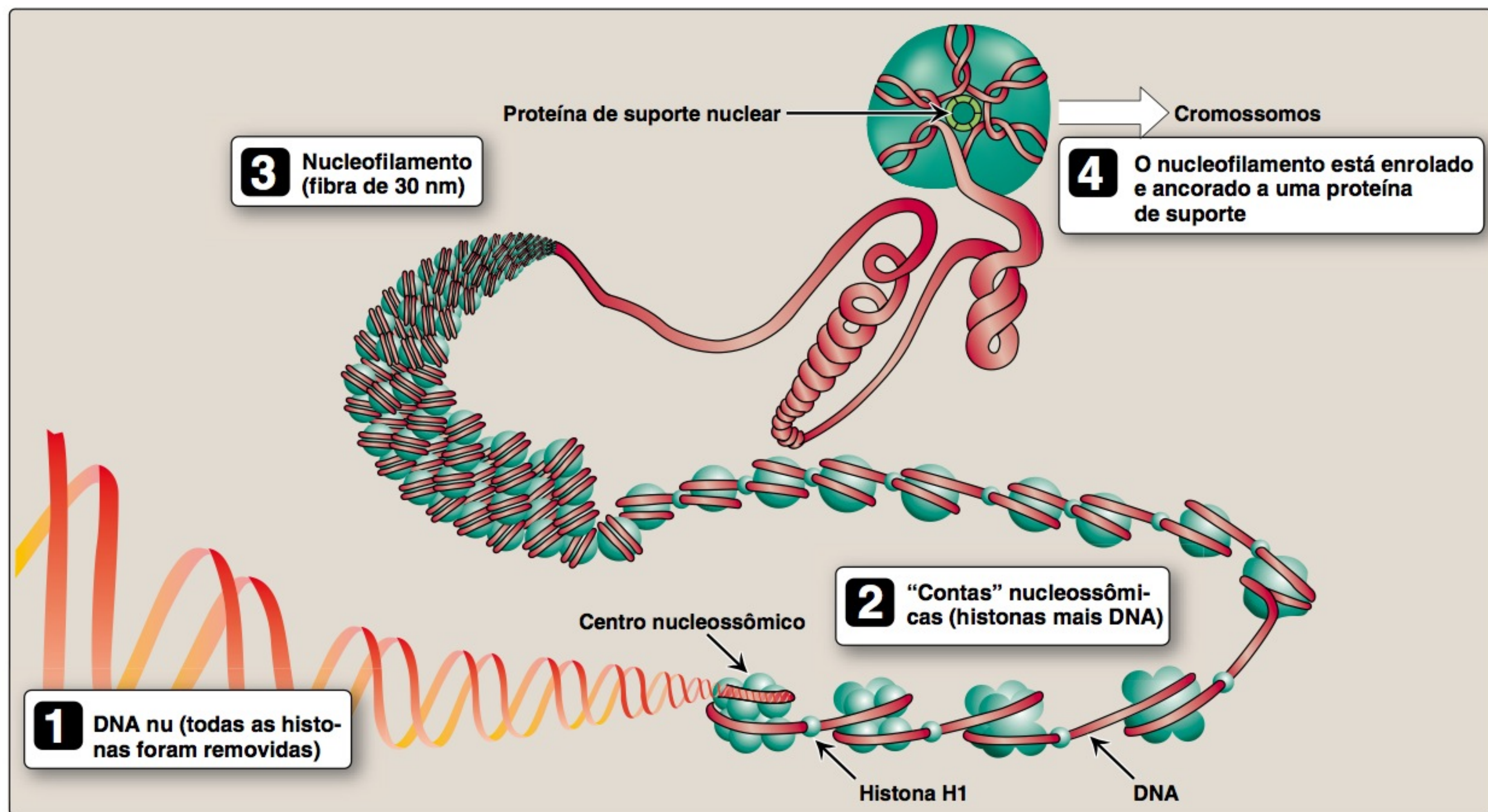


Figura 29.25

Organização do DNA humano, ilustrando a estrutura dos nucleossomos.

**Figura 29.26**

Organização estrutural do DNA eucariótico.

as histonas parentais permanecendo fracamente associadas a apenas uma das fitas de DNA parentais. A síntese de novas histonas ocorre simultaneamente com a replicação do DNA, e os nucleossomos contendo as histonas recém-sintetizadas associam-se a apenas uma das novas hélices-filhas. Dessa forma, os octâmeros das histonas parentais são conservados.

VI. REPARO DO DNA

Apesar do elaborado sistema de revisão empregado durante a síntese do DNA, certos erros – incluindo o pareamento incorreto de bases ou a inserção de um ou alguns nucleotídeos extras – podem ocorrer. Além disso, o DNA é submetido constantemente a agressões ambientais, que causam alteração ou remoção de bases nucleotídicas. Os agentes causadores de danos podem ser tanto produtos químicos, como o ácido nitroso, ou radiação, como a luz ultravioleta, que pode fundir duas pirimidinas adjacentes uma à outra no DNA, e a radiação ionizante de alta energia, que pode causar quebras nas duas fitas. As bases são também alteradas ou perdidas espontaneamente do DNA de mamíferos, em uma taxa de muitos milhares por célula por dia. Se o dano não for reparado, uma modificação permanente (mutação) pode ser introduzida e resultar em uma série de efeitos deletérios, incluindo a perda do controle sobre a proliferação da célula mutada, levando ao câncer. Por sorte, as células são altamente eficientes na reparação de danos em seu DNA. A maioria dos sistemas de reparo envolve o reconhecimento do dano (lesão) no DNA, remoção ou excisão do dano, substituição ou preenchimento da lacuna deixada pela excisão usando a fita-irmã como molde para a síntese de DNA e ligação. Esses sistemas de reparo desempenham, portanto, o reparo por excisão, com a remoção de um a dezenas de nucleotídeos. (Nota: o reparo reduz a taxa de erros de um em dez milhões de bases para um em um bilhão.)

A. Reparo de erros direcionado por metilação

Algumas vezes, os erros de replicação escapam da função de revisão durante a síntese de DNA, causando erro de uma a várias bases. Em *E. coli*, o reparo de erros é mediado por um grupo de proteínas conhecidas como proteínas Mut (Figura 29.27). Proteínas análogas estão presentes em humanos.

1. **Identificação da fita com erros.** Quando um erro ocorre, as proteínas Mut que identificam o(s) nucleotídeo(s) malpareado(s) devem ser capazes de distinguir entre a fita correta e a fita que contém o erro. A distinção é feita com base no grau de metilação. Sequências GATC, que ocorrem aproximadamente uma vez em cada mil nucleotídeos, são metiladas no resíduo adenina. Essa metilação não é feita imediatamente após a síntese, de modo que o DNA recém-sintetizado é hemimetilado (ou seja, a fita parental é metilada, ao passo que a fita recém-sintetizada não é). Parte-se do pressuposto de que a fita parental está correta e que a fita-filha precisa ser reparada. (Nota: o mecanismo exato pelo qual a fita-filha é identificada em eucariotos ainda não é conhecido.)
2. **Reparo do DNA danificado.** Quando a fita contendo o erro é identificada, uma *endonuclease* cliva a fita e o(s) nucleotídeo(s) errôneo(s) é/são removido(s) por uma *exonuclease*. Nucleotídeos adicionais também são removidos nas extremidades 5' e 3' do erro. A lacuna deixada pela remoção do(s) nucleotídeo(s) errôneo(s) é preenchida, usando a fita-irmã como molde, por uma *DNA-polimerase*. A hidroxila 3' do DNA recém-sintetizado é unida ao fosfato-5' da região restante da fita de DNA original pela *DNA-ligase* (veja a p. 406).

Mutações nas proteínas envolvidas no reparo de erros, em humanos, estão associadas ao câncer colorretal hereditário não polipoide, também conhecido como síndrome de Lynch. Nesse caso, existe aumento no risco de desenvolvimento de câncer de cólon (assim como de outros cânceres), mas somente cerca de 5% de todos os cânceres de cólon resultam de mutações no reparo de erros.

B. Reparo de danos causados pela luz ultravioleta (UV)

A exposição de uma célula à luz UV pode resultar na união covalente de duas pirimidinas adjacentes (normalmente timinas), produzindo um dímero. Esses dímeros de timina impedem a *DNA-polimerase* de replicar a fita de DNA além do sítio de formação do dímero. Os dímeros de timina sofrem excisão, em bactérias, por proteínas UvrABC, em um processo conhecido como reparo por excisão de nucleotídeos, conforme ilustrado na Figura 29.28. Uma via semelhante, envolvendo proteínas XP, está presente em humanos.

1. **Reconhecimento e excisão de dímeros por uma endonuclease UV-específica.** Inicialmente, uma *endonuclease UV-específica* (chamada de *excinuclease uvrABC*) reconhece o dímero e cliva a fita danificada em ambos os lados, 5' e 3', do dímero. Um oligonucleotídeo curto contendo o dímero é liberado, deixando uma lacuna na fita de DNA que continha o dímero. Essa lacuna é preenchida usando o mesmo sistema de reparo descrito anteriormente.

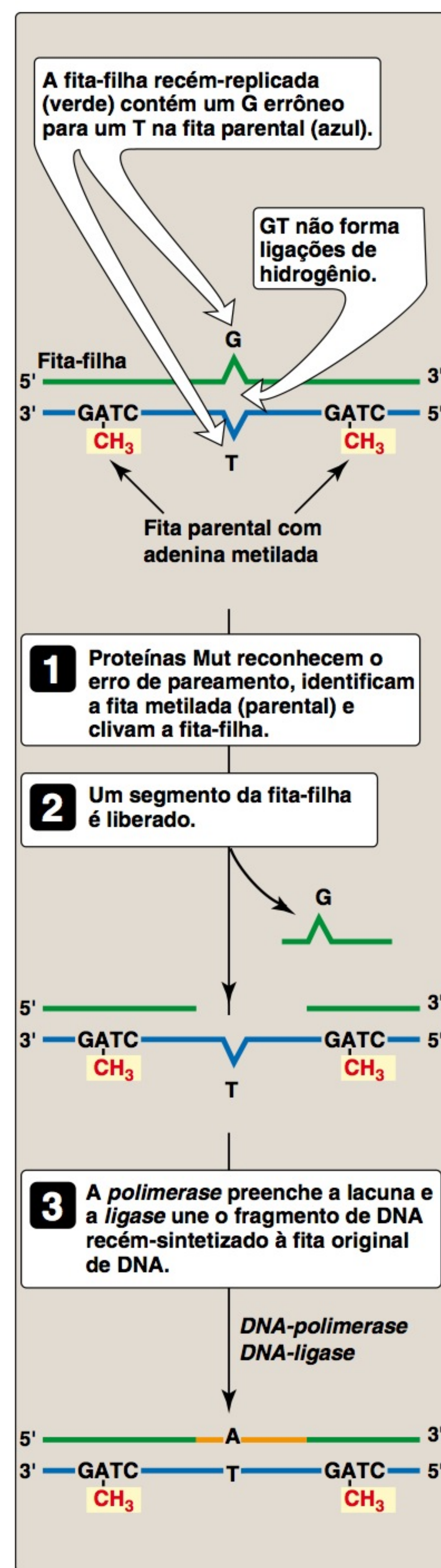
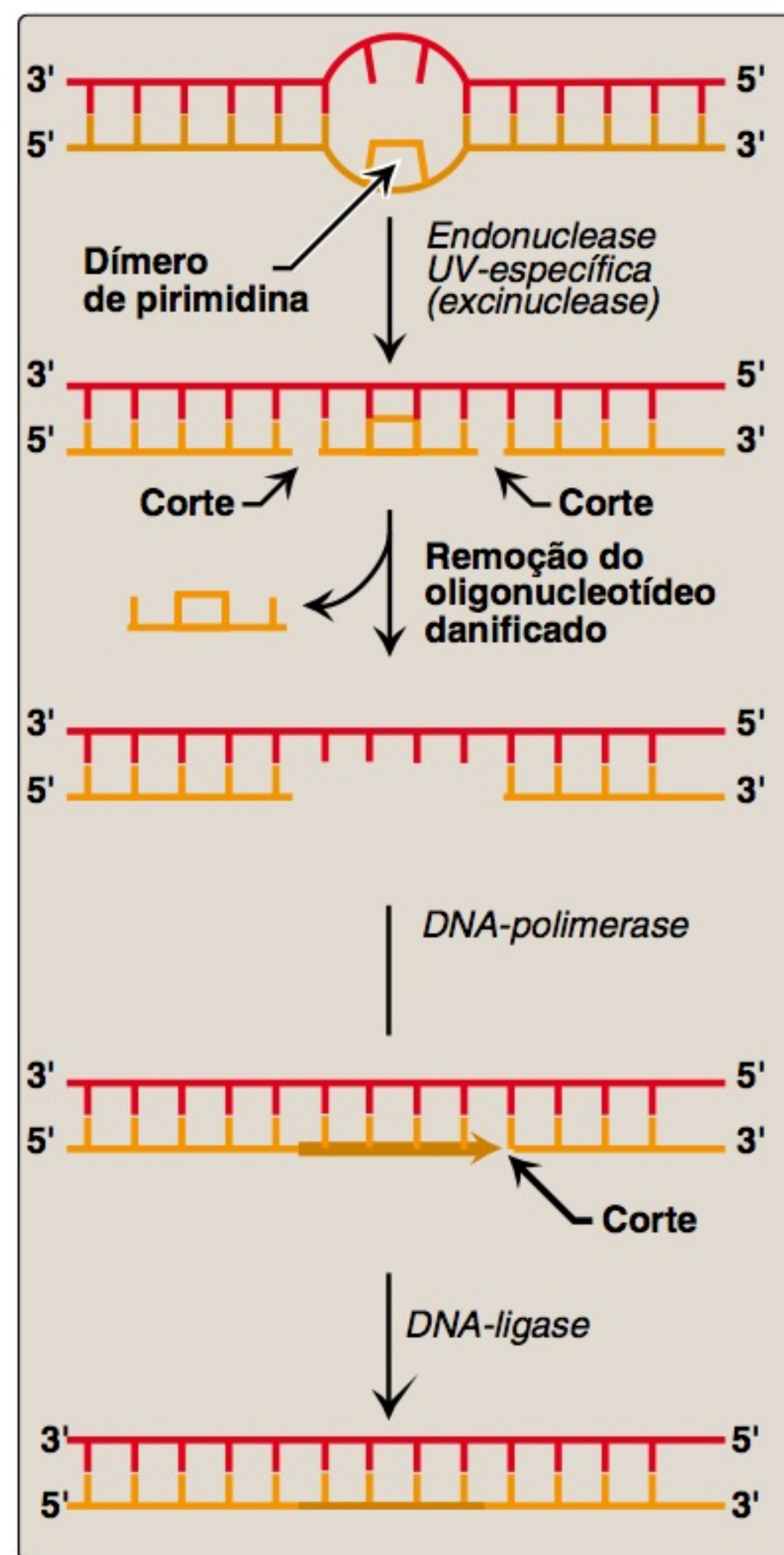


Figura 29.27

Reparo de erros direcionado por metilação.

**Figura 29.28**

Reparo de dímeros de pirimidina por excisão de nucleotídeos no DNA de *E. coli*.

**Figura 29.29**

Paciente com xeroderma pigmentoso.

2. Radiação UV e câncer. Os dímeros de pirimidinas podem ser formados nas células da pele de humanos expostos à luz solar sem proteção. Na rara doença genética xeroderma pigmentoso (XP), as células não podem reparar o DNA danificado, resultando em grande acúmulo de mutações e, conseqüentemente, em cânceres de pele precoces e numerosos (Figura 29.29). O XP pode ser causado por defeitos em qualquer um dos vários genes que codificam as proteínas XP necessárias para o reparo, por excisão de nucleotídeos, de danos devidos à luz UV em humanos.

C. Correção de alterações nas bases (reparo por excisão de bases)

As bases do DNA podem ser alteradas tanto espontaneamente, como no caso da citosina – que lentamente sofre desaminação (perda de seu grupo amino) para formar uracila –, quanto pela ação de compostos de desaminação ou alquilação. Por exemplo, o ácido nitroso, formado pela célula a partir de precursores como nitrosaminas, nitritos e nitratos, é um potente composto que desamina citosina, adenina (produzindo hipoxantina) e guanina (produzindo xantina). As bases também podem ser perdidas espontaneamente. Por exemplo, cerca de 10.000 bases púricas são perdidas dessa maneira por célula a cada dia. Lesões envolvendo alterações ou perdas de bases podem ser corrigidas por meio do reparo por excisão de bases (Figura 29.30).

- 1. Remoção das bases anormais.** Bases anormais, como as uracilas, que podem ocorrer no DNA por desaminação da citosina ou por incorporação inadequada de dUTP em vez de dTTP durante a síntese de DNA, são reconhecidas por *glicosilases* específicas, que as clivam hidroliticamente do esqueleto de desoxirribose-fosfato da fita. Isso produz um sítio apirimídico (ou apurínico, se uma purina for removida), ambos referidos como sítios AP.
- 2. Reconhecimento e reparo de um sítio AP.** *Endonucleases-AP* específicas reconhecem que uma base está faltando e iniciam o processo de excisão e preenchimento de lacunas, fazendo um corte endonucleotídico junto ao lado 5' do sítio AP. Uma *desoxirribose-fosfatolase* remove unicamente o resíduo de açúcar-fosfato desprovido de sua base. Uma *DNA-polimerase* e uma *DNA-ligase* completam o processo de reparo.

D. Reparo das quebras na fita dupla

Radiação de alta energia ou radicais livres oxidativos (veja a p. 148) podem causar quebras na fita dupla do DNA, potencialmente letais para a célula. As quebras na fita dupla ocorrem também naturalmente, durante os rearranjos gênicos. Quebras na dupla-fita do DNA não podem ser corrigidas pela estratégia descrita previamente, de fazer a excisão do dano em uma fita e usar a fita que permaneceu como molde para recolocar o(s) nucleotídeo(s) que está(ão) faltando. Em vez disso, as quebras na fita dupla são reparadas por dois sistemas. O primeiro é o reparo pela junção de extremidades não homólogas, no qual as extremidades de dois fragmentos de DNA são reunidas por um grupo de proteínas que efetuam a sua ligação. Entretanto, um pouco de DNA é perdido no processo. Conseqüentemente, esse mecanismo de reparo é sujeito a erros e mutagênico. Defeitos nesse sistema de reparo estão associados a predisposição ao câncer e síndromes de imunodeficiências. O segundo sistema de reparo, o reparo por recombinação homóloga, usa as enzimas que normalmente desencadeiam a recombinação genética entre cromossomos homólogos durante a meiose. Esse sistema induz

um número muito menor de erros do que a junção de extremidades não homólogas, pois qualquer DNA que seja perdido é substituído utilizando um DNA homólogo como molde.

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

O DNA contém muitos desoxirribonucleosídeos monofosfatados covalentemente unidos por **ligações 3'→5' fosfodiéster** (Figura 29.31). As cadeias longas e não ramificadas resultantes possuem **polaridade**, com uma extremidade 5' e uma extremidade 3'. A sequência dos nucleotídeos é lida de 5'→3'. O DNA existe em forma de **molécula de fita dupla**, em que as duas cadeias estão pareadas de maneira **antiparalela** e enrolam-se uma ao redor da outra, formando uma **dupla-hélice**. A **adenina** pareia com a **timina**, e a **citossina** pareia com a **guanina**. Cada fita da dupla hélice serve de **molde** para a construção de uma fita-filha **complementar** (**replicação semiconservativa**). A replicação do DNA ocorre na **fase S** do ciclo celular e inicia na **origem da replicação**. As fitas são separadas localmente, formando duas **forquilhas de replicação**. A replicação do ddDNA é **bidirecional**. A **helicase** desenrola a dupla-hélice. Assim que as duas fitas da dupla-hélice são separadas, **supertorções positivas** são produzidas na região de DNA à frente da forquilha de replicação. As **DNA-topoisomerases tipos I e II** desfazem as supertorções. As **DNA-polimerases sintetizam** novas fitas de DNA, sempre no sentido 5'→3'. Portanto, uma das regiões recém-sintetizadas de cadeias nucleotídicas precisa crescer na direção 5'→3', aproximando-se da forquilha de replicação (**fita contínua**), e a outra na direção 5'→3', afastando-se da forquilha de replicação (**fita descontínua**). As DNA-polimerases necessitam de um **iniciador**. O iniciador para a síntese de DNA *de novo* é uma curta região de RNA sintetizada pela **primase**. A fita contínua necessita somente de um iniciador de RNA, ao passo que a fita descontínua necessita de muitos. O alongamento das cadeias de DNA na *Escherichia coli* é catalisado pela **DNA-polimerase III**, usando **desoxirribonucleosídeos 5'-trifosfatados** como substratos. A enzima “revisa” os DNA recém-sintetizados, removendo os nucleotídeos terminais malpareados com a sua atividade **exonucleásica 3'→5'**. Os iniciadores de RNA são removidos pela **DNA-polimerase I**, usando sua atividade **exonucleásica 5'→3'**. As lacunas resultantes são preenchidas com DNA por essa mesma enzima, que também faz a edição, à medida que faz a síntese. A ligação fosfodiéster final é catalisada pela **DNA-ligase**. Existem pelo menos cinco classes de **DNA-polimerases eucarióticas**. A **pol α** é uma enzima com múltiplas subunidades, uma das quais é a **primase**. A atividade de polimerase 5'→3' da pol α adiciona um pequeno pedaço de DNA ao iniciador de RNA. Acredita-se que a **pol ε** complete a síntese de DNA na fita contínua enquanto a pol δ alonga cada um dos fragmentos da fita descontínua. Ambas ε e δ utilizam a atividade de **exonuclease 3'→5'** para a **edição**. A **pol β** está envolvida com o reparo de DNA e a **pol γ** replica o DNA mitocondrial. **Análogos de nucleosídeos**, contendo açúcares modificados, podem ser usados para bloquear o crescimento da cadeia do DNA. Eles são úteis na quimioterapia anticâncer e antiviral. **Telômeros** são regiões de **DNA altamente repetitivo**, complexadas com proteínas que protegem as **extremidades** de cromossomos lineares. Com as divisões e o envelhecimento da maioria das células, essas sequências são encurtadas, contribuindo para sua senescência.

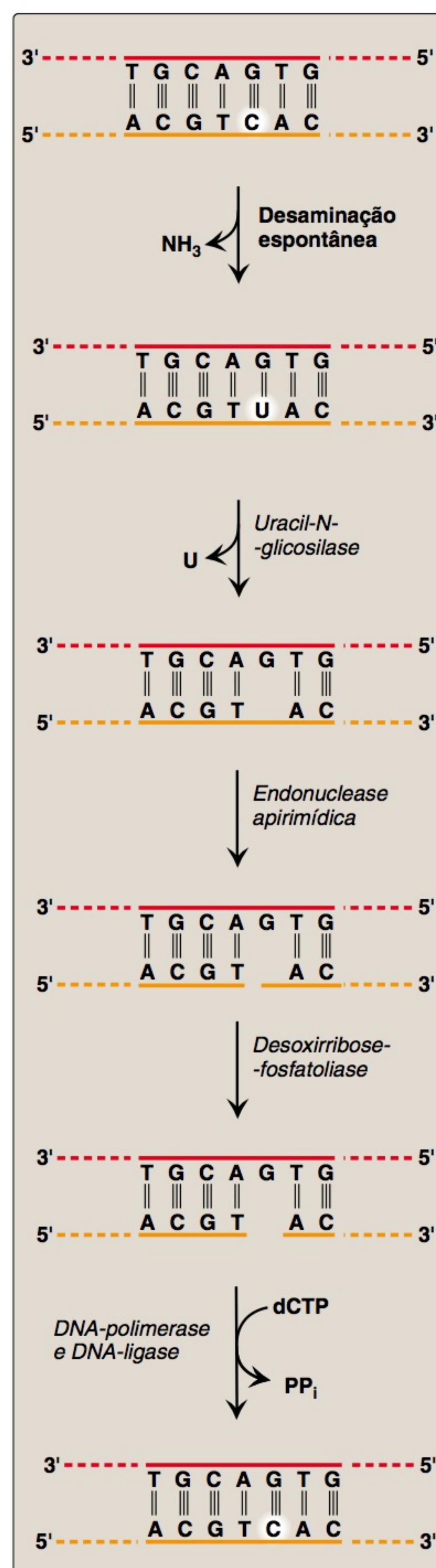


Figura 29.30

Correção de alterações em bases pelo reparo por excisão de bases.

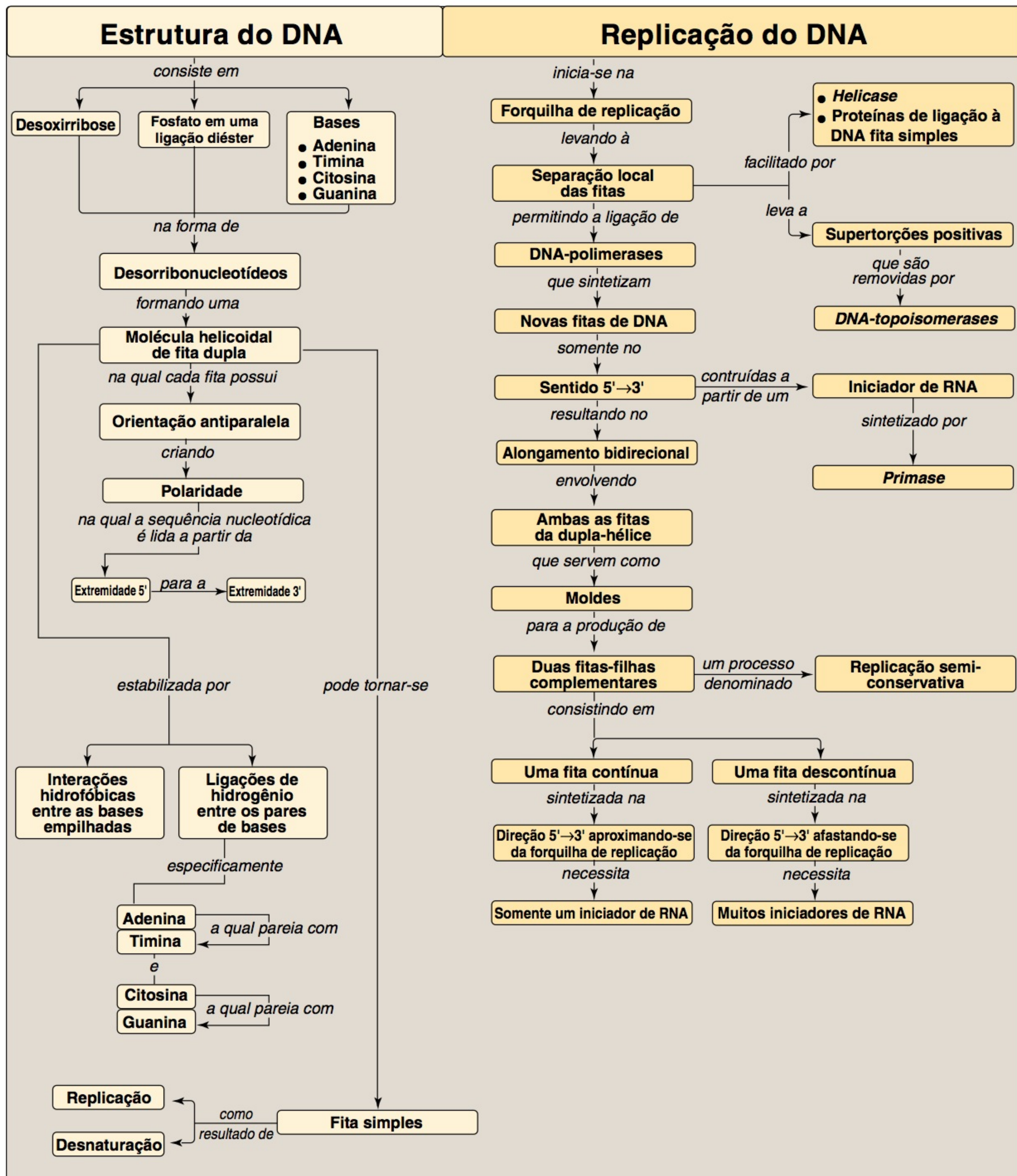


Figura 29.31 (continua na próxima página)

Mapa de conceitos-chave para a estrutura, a replicação e o reparo do DNA.

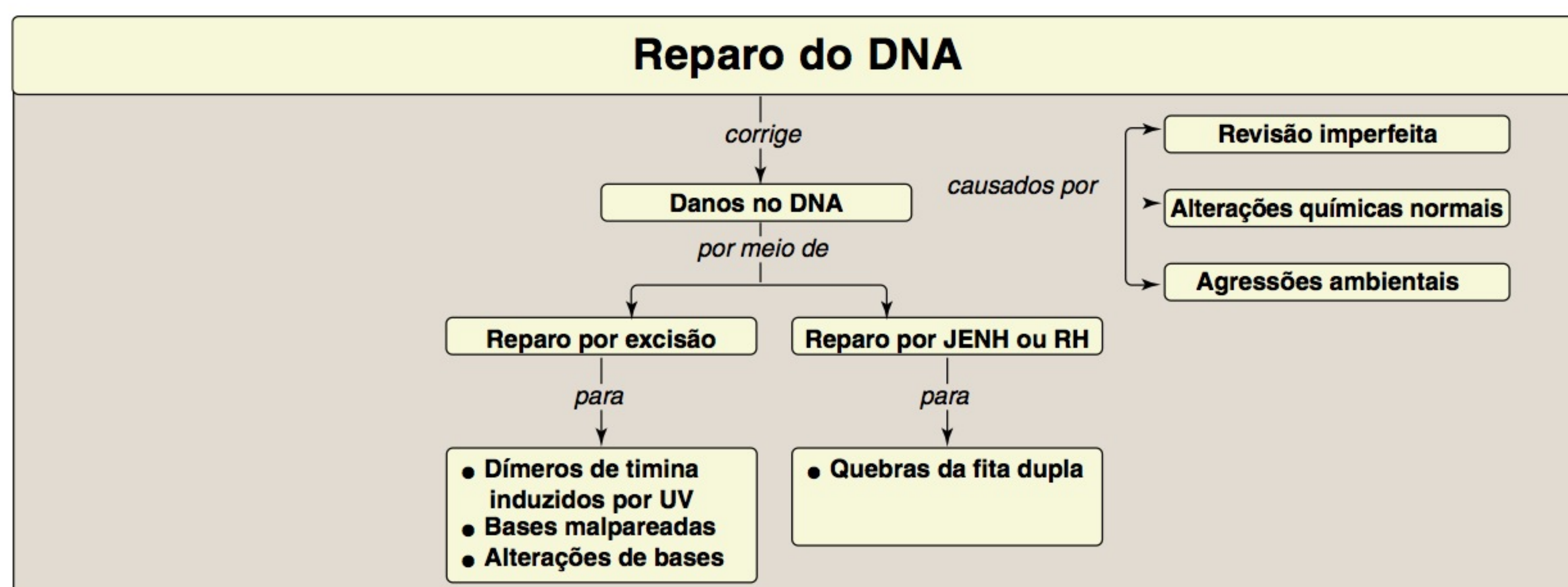


Figura 29.31 (continuação da página anterior.)

Mapa de conceitos-chave para a estrutura, a replicação e o reparo do DNA. JENH = junção de extremidades não homólogas; RH = recombinação homóloga.

Nas células que não envelhecem (p. ex., as células da linhagem germinativa e células cancerosas), a enzima **transcriptase reversa**, componente da **telomerase**, aumenta os telômeros, utilizando o seu **RNA como molde**. Existem cinco classes de **proteínas histonas positivamente carregadas**. Duas moléculas de cada histona H2A, H2B, H3 e H4 formam um centro estrutural, ao redor do qual o DNA é enrolado, criando um **nucleossomo**. O DNA conectando os nucleossomos, chamado de **DNA ligante**, está ligado à histona H1. Os nucleossomos podem ser empacotados mais firmemente, formando um nucleofilamento. Níveis adicionais de organização criam um cromossomo. A maior parte dos danos no DNA pode ser corrigida pelo **reparo por excisão, envolvendo o reconhecimento e remoção do dano por proteínas de reparo, seguido por sua substituição pela DNA-polimerase e ligação pela ligase**. A luz ultravioleta pode formar dímeros de timinas, que são reconhecidos e removidos pelas **proteínas uvrABC de reparo por excisão de nucleotídeos**. Defeitos nas **proteínas XP**, necessárias para o reparo dos dímeros de timina em humanos, resultam no **xeroderma pigmentoso**. Bases malpareadas podem ser removidas por um mecanismo semelhante de reconhecimento e remoção pelas **proteínas Mut** em *E. coli*. A extensão da **metilação** é utilizada para a identificação de fitas em procariotos. Defeitos no reparo de erros de pareamento por proteínas homólogas em humanos estão associados ao **câncer colorretal hereditário não polipoide**. Bases anormais (como a uracila) são removidas pelas **glicosilases no reparo por excisão de bases**, e o açúcar-fosfato no sítio AP é retirado. Quebras na fita dupla no DNA são reparadas pela **junção de extremidades não homólogas** (sujeita a erros) e pela **recombinação homóloga**.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 29.1 Uma menina de 10 anos de idade é levada a um dermatologista por seus pais. Ela possui muitas sardas na face, no pescoço, nos braços e nas mãos, e seus pais relatam que ela é anormalmente sensível à luz do sol. Dois carcinomas de células basais são identificados em sua face. Qual dos seguintes processos está provavelmente defeituoso nessa paciente?
- Reparo de quebras da dupla-fita.
 - Remoção das bases malpareadas a partir da extremidade 3' dos fragmentos de Okazaki.
 - Remoção de dímeros de pirimidina do DNA.
 - Remoção da uracila do DNA.

Resposta correta = C. A sensibilidade à luz do sol, a intensa formação de manchas em partes do corpo expostas ao sol e a presença de câncer de pele em uma idade precoce indicam que a paciente provavelmente sofre de xeroderma pigmentoso. Esses pacientes são deficientes em alguma das diversas proteínas XP, necessárias para o reparo por excisão de nucleotídeos do DNA danificado por luz ultravioleta. Quebras na dupla-fita são reparadas pela junção de extremidades não homólogas ou por recombinação homóloga. A uracila é removida das moléculas de DNA danificadas por uma glicosilase específica.

29.2 Telômeros são complexos de DNA e proteínas que protegem as extremidades dos cromossomos lineares. Na maioria das células humanas somáticas normais, os telômeros encurtam a cada divisão. Nas células-tronco e nas células cancerosas, entretanto, o comprimento telomérico é mantido. Na síntese dos telômeros:

- A. A telomerase, uma ribonucleoproteína, fornece tanto o RNA como a polimerase necessários para a síntese.
- B. O RNA da telomerase serve como iniciador.
- C. A polimerase da telomerase é uma DNA-polimerase dependente de (direcionada por) DNA.
- D. A fita 3'→5' mais curta é alongada.
- E. O sentido da síntese é 3'→5'.

29.3 Enquanto estuda a estrutura de um pequeno gene recentemente sequenciado durante o Projeto Genoma Humano, um pesquisador descobre que uma fita da molécula de DNA contém 20 As, 25 Gs, 30 Cs e 22 Ts. Quanto de cada base é encontrado na molécula de fita dupla completa?

- A. A = 40, G = 50, C = 60, T = 44.
- B. A = 44, G = 60, C = 50, T = 40.
- C. A = 45, G = 45, C = 52, T = 52.
- D. A = 50, G = 47, C = 50, T = 47.
- F. A = 42, G = 55, C = 55, T = 42.

29.4 O grau de síntese de DNA em uma célula poderia ser determinado mais especificamente pela mensuração da incorporação da seguinte molécula marcada radioativamente:

- A. Leucina.
- B. Fosfato.
- C. Ribose.
- D. Timidina.
- E. Uracila.

Resposta correta = A. A telomerase é uma partícula de ribonucleoproteína necessária para a manutenção dos telômeros. A telomerase contém um RNA que serve de molde, não como iniciador, para a síntese do DNA telomérico por meio da transcriptase reversa da telomerase. Assim como a transcriptase reversa, ela sintetiza DNA utilizando seu molde de RNA e, dessa forma, é uma DNA-polimerase dependente de RNA. O sentido da síntese, como o de todas as sínteses de DNA, é 5'→3'. A fita 5'→3' (a mais comprida) é alongada.

Resposta correta = E. As duas fitas de DNA são complementares uma à outra, com A pareando com T, e G pareando com C. Dessa forma, por exemplo, os 20 As na primeira fita iriam parear com 20 Ts na segunda fita, os 25 Gs na primeira fita iriam parear com 25 Cs na segunda fita, e assim por diante. Quando todas são somadas, as quantidades corretas de cada base são as indicadas na alternativa E. Observe que, na resposta correta, A = T e G = C.

Resposta correta = D. A timidina é incorporada no DNA e assim reflete o grau de síntese de DNA. A leucina é um aminoácido, não uma base nucleotídica. O fosfato não é exclusivo do DNA. A ribose é encontrada no RNA, ao passo que a desoxirribose é a pentose encontrada no DNA. A uracila é normalmente encontrada somente no RNA. Caso esteja presente no DNA, provavelmente como resultado de desaminação da citosina, ela será removida pela uracil-glicosilase durante o reparo por excisão de bases.

Estrutura, Síntese e Processamento do RNA

I. VISÃO GERAL

O plano genético geral de um organismo está contido na sequência de desoxirribonucleotídeos de seu ácido desoxirribonucleico (DNA). Entretanto, é por meio do ácido ribonucleico (RNA) – as “cópias de trabalho” do DNA – que o plano geral é expresso (Figura 30.1). O processo de cópia, durante o qual a fita de DNA serve de matriz para a síntese de RNA, é chamado de transcrição. A transcrição produz RNA mensageiros, traduzidos em sequências de aminoácidos (cadeias polipeptídicas ou proteínas); produz também RNA ribossomais, RNA transportadores e pequenas moléculas adicionais de RNA, que desempenham funções estruturais, catalíticas e regulatórias especializadas e não são traduzidos, ou seja, são RNA não codificantes (RNAnc). O produto final da expressão gênica, portanto, pode ser RNA ou proteína, dependendo do gene. A característica central da transcrição é ser altamente seletiva. Por exemplo, muitos transcritos são produzidos a partir de algumas regiões de DNA. Em outras regiões, pouca ou nenhuma transcrição é realizada. Esta seletividade é devida, pelo menos em parte, a sinais implantados na sequência de nucleotídeos do DNA. Esses sinais instruem a *RNA-polimerase* acerca de onde começar, com que frequência começar e onde terminar a transcrição. Uma variedade de proteínas reguladoras está envolvida também nesse processo de seleção. A diferenciação bioquímica dos tecidos de um organismo é, em última análise, o resultado da seletividade do processo de transcrição. (Nota: essa seletividade da transcrição contrasta com a natureza de “tudo ou nada” da replicação genômica.) Outra característica importante da transcrição é a de que muitos transcritos de RNA, inicialmente cópias fiéis de uma das duas fitas de DNA, podem sofrer várias modificações, como: adições terminais, modificações nas bases, hidrólise de extremidades e remoção de segmentos internos. Essas modificações convertem o transcrito primário inativo em uma molécula funcional.

II. ESTRUTURA DO RNA

Três tipos principais de RNA participam do processo de síntese proteica: RNA ribossomal (RNAr), RNA transportador (RNAt) e RNA mensageiro (RNAm).

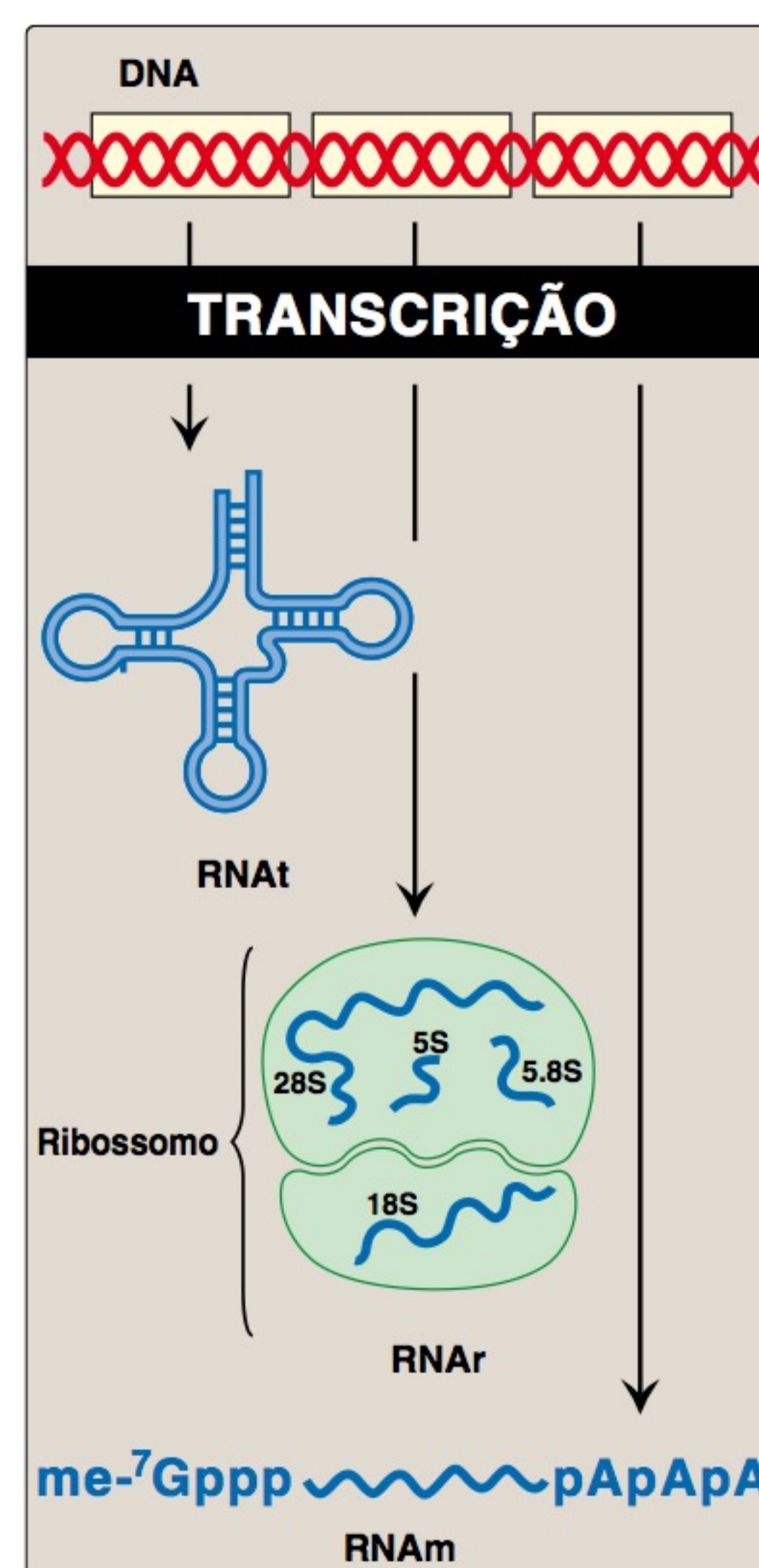


Figura 30.1

Expressão da informação genética pela transcrição. (Nota: Os RNA mostrados são eucarióticos.) me-7Gppp = “quepe” de 7-metilguanina trifosfato; AAA = cauda de poli-A; ambos descritos na página 418.

RNAr procarióticos	
	23S
	16S
	5S
RNAr eucarióticos	
	28S
	18S
	5,8S
	5S

Figura 30.2

Tipos de RNAr procarióticos e eucarióticos.

Assim como o DNA, esses três tipos de RNA são moléculas poliméricas não ramificadas, compostas de nucleosídeos monofosfatados unidos por ligações fosfodiéster (veja a p. 396). Entretanto, eles diferem do DNA de várias maneiras; por exemplo, são consideravelmente menores do que o DNA, contêm ribose em vez de desoxirribose, uracila em vez de timina e existem em forma de fitas únicas, capazes de dobrarem-se em estruturas complexas. Os três tipos principais de RNA também diferem uns dos outros em tamanho, função e modificações estruturais especiais. (Nota: nos eucariotos, pequenas moléculas adicionais de RNAr encontradas no nucléolo [RNAsno] e no núcleo [RNAsn] desempenham funções especializadas, como descrito nas p. 425 e 426.)

A. RNA ribossomal

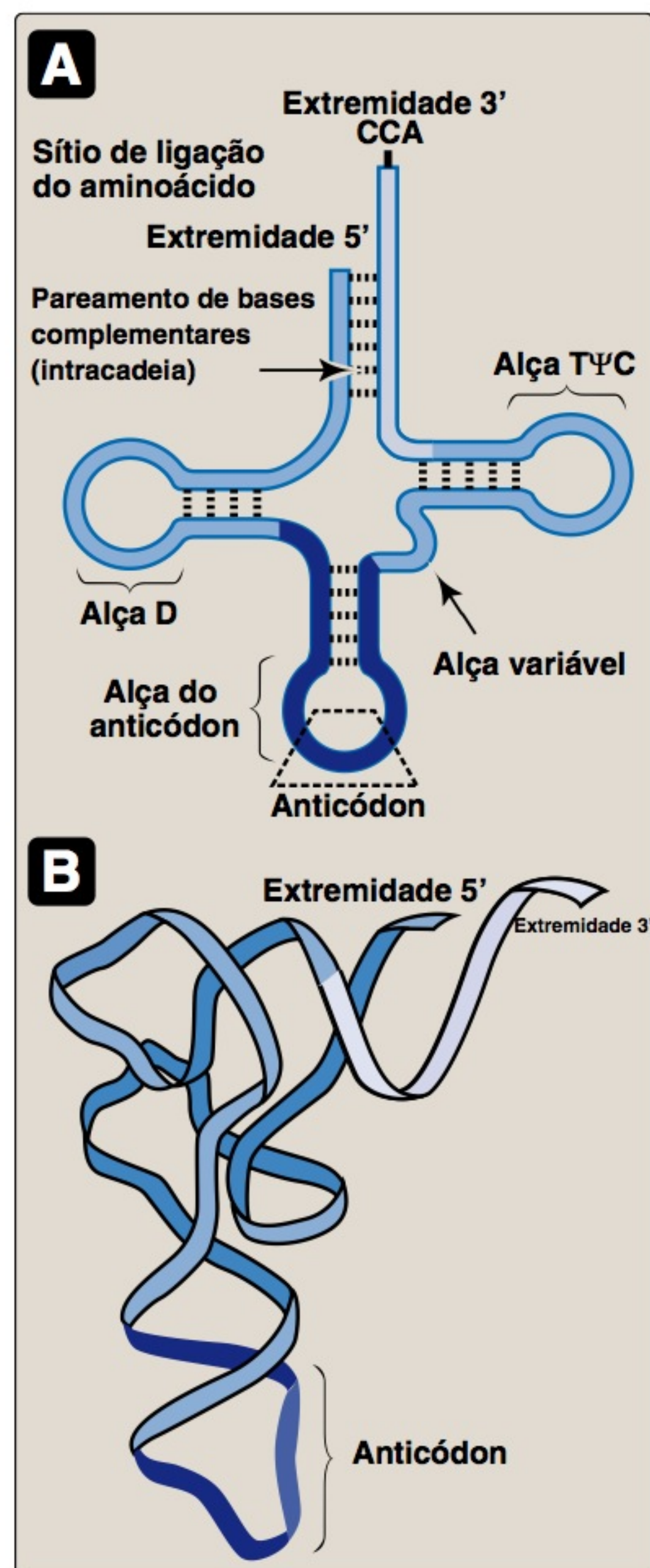
Os RNAr são encontrados em associação a várias proteínas como componentes dos ribossomos – as estruturas complexas que servem de sítios para a síntese proteica (veja a p. 436). Existem três espécies de RNAr de tamanhos distintos (23S, 16S e 5S) em células procarióticas (Figura 30.2). No citosol eucariótico, existem quatro espécies de RNAr de tamanhos distintos (28S, 18S, 5,8S e 5S). (Nota: “S” é a unidade Svedberg, relacionada com o peso molecular e a forma do composto.) Juntos, os RNAr totalizam 80% do RNA total na célula. (Nota: alguns RNAr funcionam como catalisadores na síntese proteica [veja na p. 439]. O RNA com atividade catalítica é denominado “ribozima”.)

B. RNA transportador

Os RNAt são os menores (4S) entre os três tipos principais de moléculas de RNA. Existe pelo menos um tipo específico de molécula de RNAt para cada um dos vinte aminoácidos comumente encontrados nas proteínas. Juntos, os RNAt correspondem a aproximadamente 15% do RNA total da célula. As moléculas de RNAt contêm alta porcentagem de bases incomuns (p. ex., di-hidrouracila, veja a Figura 22.2, p. 292) e possuem muitos pareamentos de bases intracadeia (Figura 30.3), que levam a estruturas secundárias e terciárias características. Cada RNAt exerce a função de molécula “adaptadora” que transporta o seu aminoácido específico – covalentemente ligado na extremidade 3’ – para o sítio de síntese proteica. Lá, o RNAt reconhece a sequência do código genético em um RNAm, que especifica a adição do aminoácido à cadeia peptídica em crescimento (veja a p. 432).

C. RNA mensageiro

O RNA mensageiro (RNAm) compreende somente em torno de 5% do RNA da célula. Entretanto, é de longe o tipo mais heterogêneo de RNA em tamanho e sequência de bases. O RNAm carrega a informação genética do DNA nuclear para o citosol, onde é usado como matriz para a síntese proteica. Se o RNAm carrega informação referente a mais de um gene, é chamado de policistrônico. O RNAm policistrônico é característico de procariotos. Se o RNAm carrega informação de apenas um gene, é chamado de monocistrônico, característico de eucariotos. Além das regiões codificantes para proteínas, que podem ser traduzidas, o RNAm contém regiões não traduzidas nas suas extremidades 5’ e 3’ (Figura 30.4). Características estruturais especiais dos RNAm eucarióticos (mas não procarióticos) incluem uma sequência longa de nucleotídeos da adenina (uma “cauda poli-A”) na extremidade 3’ da cadeia de RNA, mais um “quepe” na extremidade 5’, que consiste em uma molécula de 7-metilguanossina ligada de “trás para diante” (5’→5’) por meio de uma ligação trifosfato, como mostrado na Figura 30.4. Os mecanismos para a modificação do RNAm, a fim de criar essas características estruturais especiais, são discutidos na página 425.

**Figura 30.3**

A. Estrutura secundária característica do RNAt. B. Estrutura dobrada (terciária) dos RNAt, encontrada nas células.

III. TRANSCRIÇÃO DOS GENES PROCARIÓTICOS

A estrutura da *RNA-polimerase*, os sinais responsáveis pelo controle da transcrição e as variedades de modificações sofridos pelos transcritos de RNA diferem entre os organismos, particularmente de procariotos para eucariotos. Assim, neste capítulo, as discussões sobre as transcrições em procariotos e eucariotos são apresentadas separadamente.

A. Propriedades da RNA-polimerase procariótica

Nas bactérias, uma espécie de *RNA-polimerase* sintetiza todos os RNA, com exceção dos pequenos iniciadores de RNA necessários para a replicação do DNA (iniciadores de RNA são sintetizados por uma enzima especializada, a *primase*, veja a p. 402). A *RNA-polimerase* é uma enzima com múltiplas subunidades, que reconhece uma sequência nucleotídica (a região promotora) no início de uma região de DNA que deve ser transcrita. Ela então faz uma cópia de RNA complementar à fita-molde do DNA e também reconhece o final da sequência de DNA a ser transcrita (a região de terminação). O RNA é sintetizado a partir da sua extremidade 5' para a sua extremidade 3', antiparalela a sua fita-molde de DNA (veja a p. 397). O molde é copiado da mesma forma que na síntese de DNA, na qual um G no DNA especifica um C no RNA, um C especifica um G, um T no molde de DNA especifica um A no RNA, mas um A no molde especifica um U (em vez de um T) no RNA (Figura 30.5). O RNA, portanto, é complementar à fita de DNA molde (antis-senso) e idêntico à fita codificante (senso), com U substituindo T. Dentro da molécula de DNA, regiões de ambas as fitas podem servir de molde para a transcrição. Para um dado gene, entretanto, somente uma das duas fitas de DNA pode ser o molde. A decisão a respeito de qual fita será utilizada é determinada pela localização do promotor de cada gene. A transcrição pela *RNA-polimerase* envolve uma enzima central e várias proteínas auxiliares.

- 1. Enzima central.** Quatro das subunidades peptídicas da enzima, 2α , 1β e $1\beta'$, são responsáveis por montagem da estrutura da enzima (2α), ligação à fita-molde (β') e atividade de *RNA-polimerase* 5'→3' (β), e são referidas como a enzima central (Figura 30.6). Entretanto, essa enzima não possui especificidade, ou seja, não consegue reconhecer a região promotora no molde de DNA. (Nota: a função de uma quinta subunidade, Ω , não é conhecida.)
- 2. Holoenzima.** A subunidade σ ("fator sigma") capacita a *RNA-polimerase* a reconhecer as regiões promotoras no DNA. A subunidade σ mais a enzima central compõem a holoenzima. (Nota: diferentes fatores σ reconhecem diferentes grupos de genes.)

B. Etapas na síntese de RNA

O processo de transcrição de um gene típico de *E. coli* pode ser dividido em três fases: iniciação, alongamento e terminação. Uma unidade de transcrição estende-se do promotor à região de terminação, e o produto inicial do processo de transcrição pela *RNA-polimerase* é denominado transcrito primário.

- 1. Iniciação.** O processo de transcrição inicia com a ligação da holoenzima *RNA-polimerase* em uma região no DNA conhecida como promotor, a qual não é transcrita. O promotor procariótico contém sequências consenso características (Figura 30.7). (Nota: sequências consenso são sequências idealizadas, em que a base mostrada em cada posição é a base encontrada com mais frequência [mas não necessariamente sempre] naquela posição.) Aquelas que são reconhecidas pelos fatores σ da *RNA-polimerase* procariótica incluem as sequências descritas a seguir.

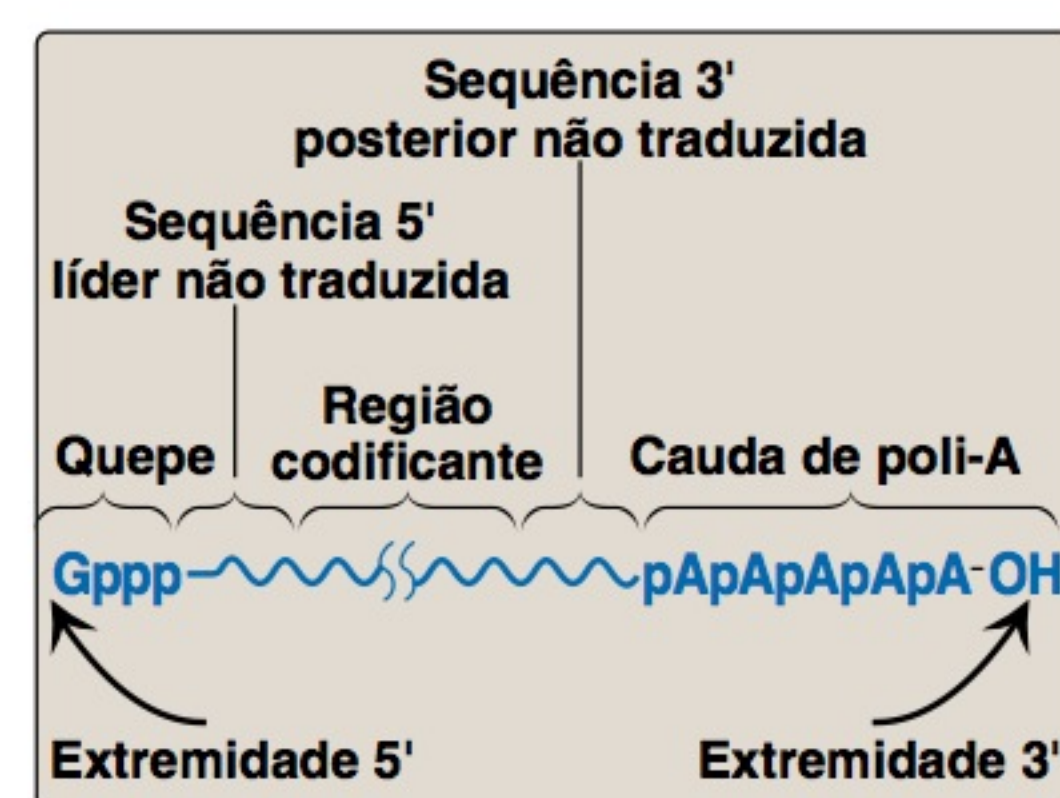


Figura 30.4

Estrutura do RNA mensageiro eucariótico.

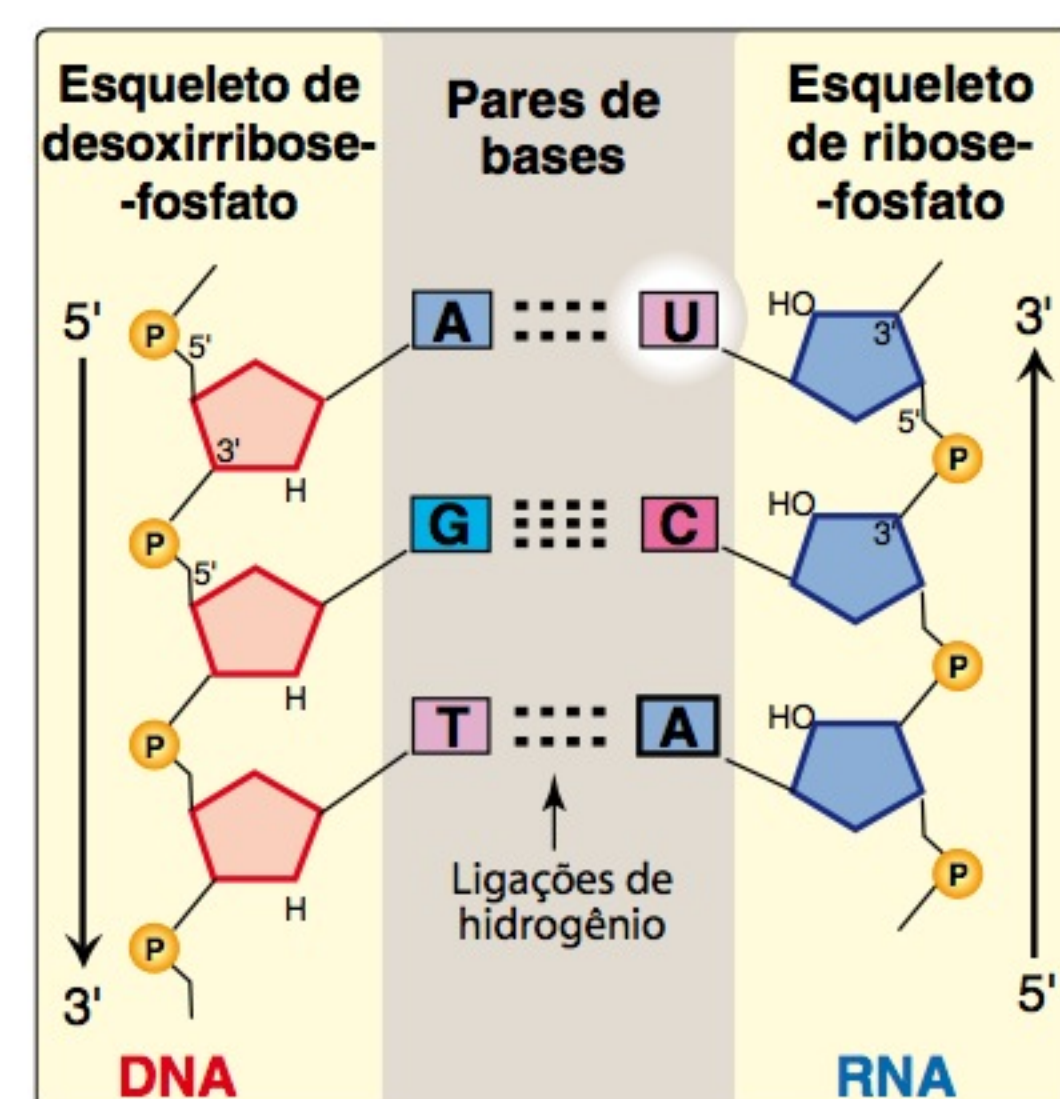


Figura 30.5

Pares de bases complementares e anti-paralelas entre o DNA e o RNA.

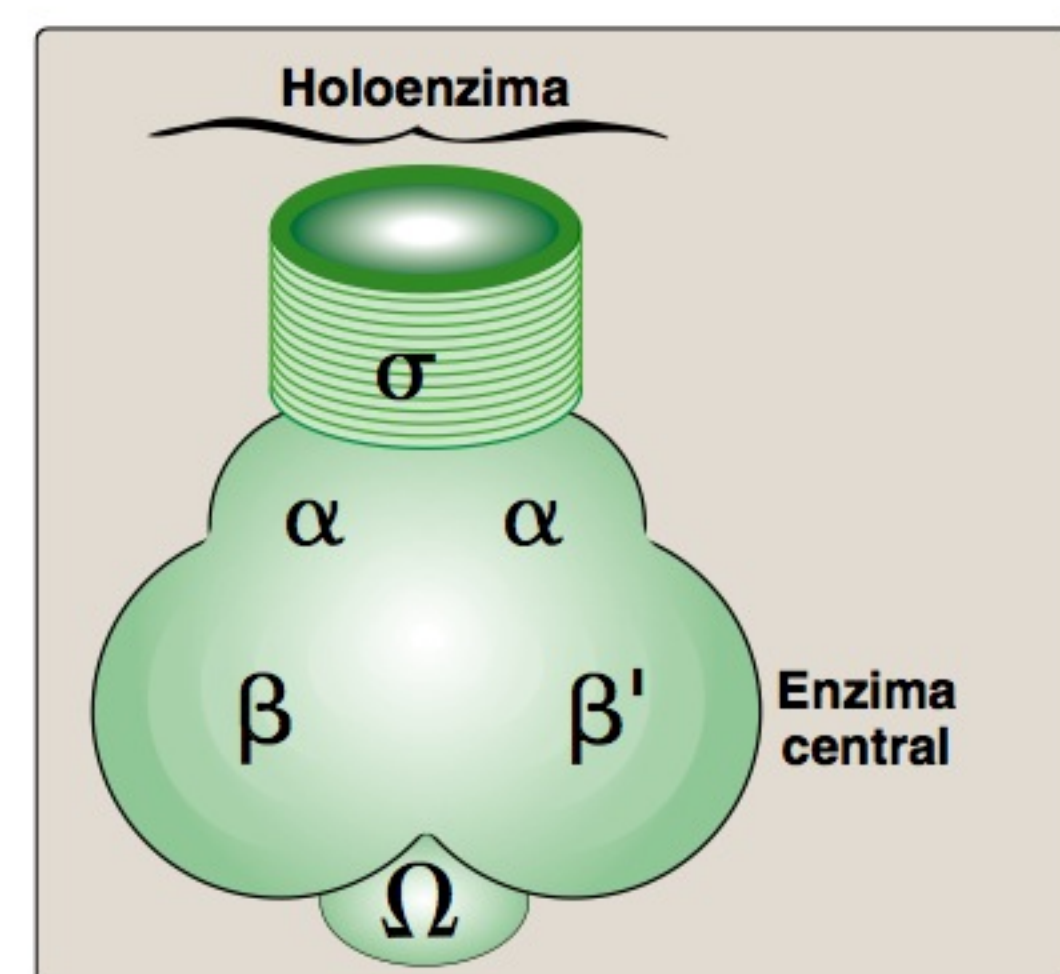
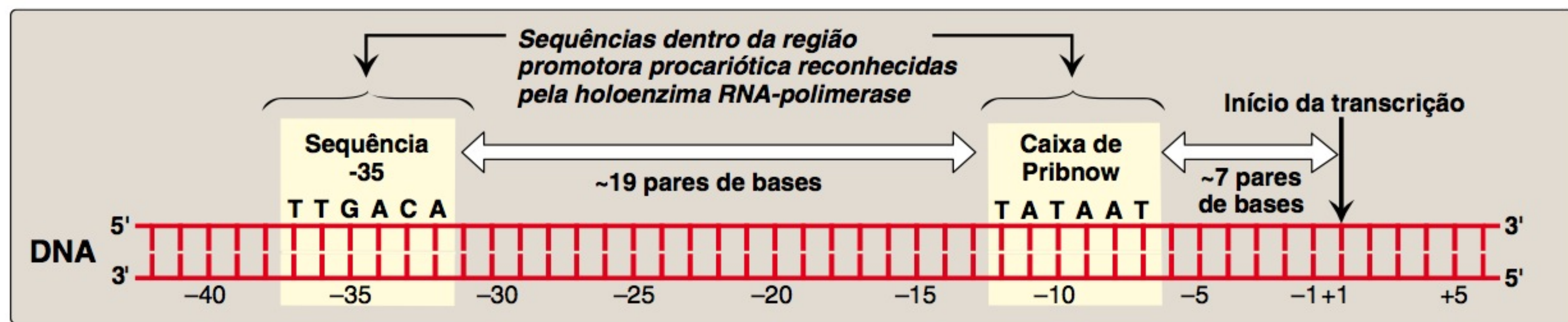


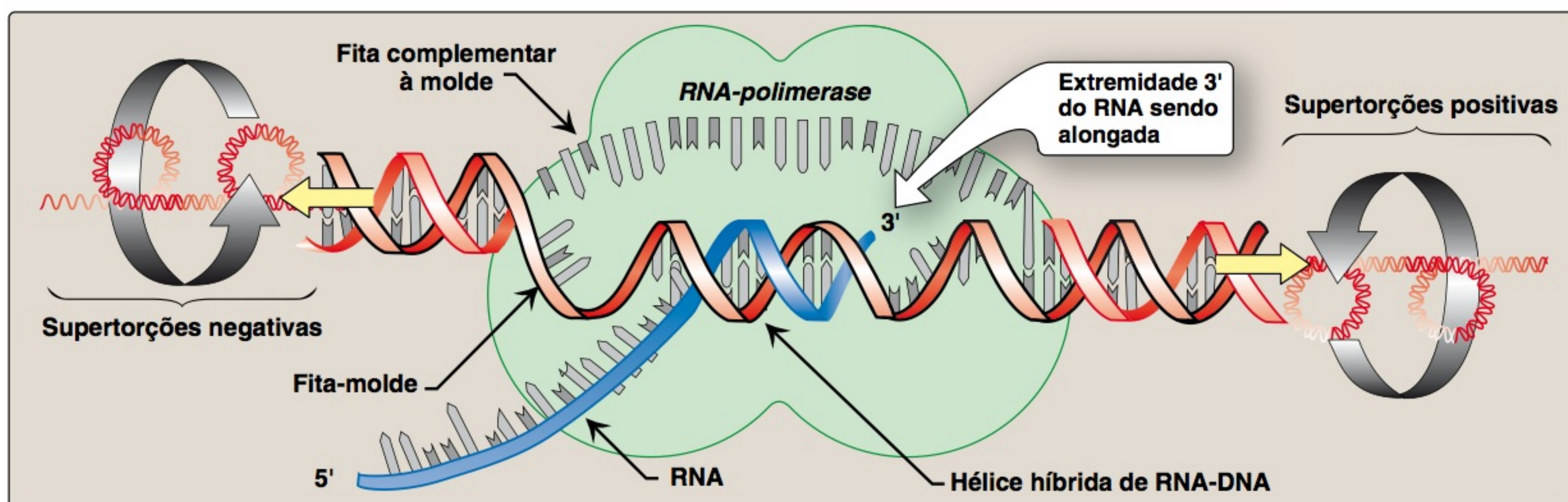
Figura 30.6

Componentes da *RNA-polimerase* procariótica.

**Figura 30.7**

Estrutura da região promotora procariótica.

- a. **Sequência -35.** Uma sequência nucleotídica consenso (5'-TTGACA-3'), centrada ao redor de 35 bases à esquerda do sítio de início da transcrição (veja a Figura 30.7), é o ponto inicial de contato para a holoenzima e onde um complexo fechado é formado. (Nota: as sequências regulatórias que controlam a transcrição são, por convenção, designadas pela sequência nucleotídica 5'→3' na fita complementar à fita-molde. Para as bases na região promotora, é designado um número negativo se ela ocorrer antes [à esquerda, em direção à extremidade 5', a montante, ou "acima"] do sítio de início da transcrição. Dessa forma, a sequência TTGACA está centrada aproximadamente na base -35. A primeira base no sítio de início de transcrição está na posição +1. Não há qualquer base designada como "0".)
 - b. **Caixa de Pribnow.** A holoenzima move-se e cobre uma segunda sequência consenso (5'-TATAAT-3'), centrada ao redor de dez nucleotídeos à esquerda do sítio de início da transcrição (veja a Figura 30.7), a qual é o sítio inicial de fusão (desenrolamento) do DNA. A fusão de uma pequena região (ao redor de 14 bases) converte o complexo fechado em um complexo aberto conhecido como bolha de transcrição. (Nota: uma mutação tanto na caixa Pribnow como na sequência -35 pode afetar a transcrição do gene controlado pelo promotor mutante.)
2. **Alongamento.** Uma vez que a região promotora tenha sido reconhecida pela holoenzima e esteja ligada a ela, ocorre um desenrolamento local (desnaturação) da hélice de DNA (Figura 30.8), mediado pela po-

**Figura 30.8**

Desenrolamento local do DNA causado pela RNA-polimerase e formação de um complexo aberto de início de transcrição.

limerase. (Nota: o processo gera no DNA supertorções que podem ser relaxadas pelas *DNA-topoisomerases* [veja a p. 401].) A *RNA-polimerase* começa a sintetizar um transcrito a partir da sequência de DNA, e vários fragmentos curtos de RNA são produzidos e descartados. Considera-se a fase de alongamento iniciada quando o transcrito (normalmente começando por uma purina) ultrapassa os 10 nucleotídeos de comprimento. O fator σ é então liberado, e a enzima central é capaz de deixar (“liberar”) o promotor e mover-se ao longo da fita-molde, adicionando nucleotídeos sem dissociar-se. Durante a replicação, é formada uma curta hélice híbrida de DNA-RNA (veja a Figura 30.8). Assim como a *DNA-polimerase*, a *RNA-polimerase* utiliza nucleosídeos trifosfatados como substratos e libera pirofosfato cada vez que um nucleosídeo monofosfato é adicionado à cadeia em crescimento. Assim como na replicação, a transcrição sempre ocorre no sentido 5'→3'. Ao contrário da *DNA-polimerase*, a *RNA-polimerase* não necessita de iniciador e não apresenta qualquer atividade conhecida de revisão.

3. Terminação. O processo de alongamento da cadeia de RNA de fita simples continua até que um sinal de terminação seja atingido. A terminação pode ser intrínseca (espontânea) ou dependente da participação de uma proteína conhecida como fator ρ (rô).

a. Terminação independente de ρ . Encontrada na maior parte dos genes procarióticos, esta terminação exige que uma sequência no DNA-molde gere uma sequência autocomplementar no RNA nascente (recém-produzido) (Figura 30.9). Isso permite que o RNA dobre-se sobre si próprio, formando uma haste rica em GC (estabilizada por ligações de hidrogênio) somada a uma alça. Essa estrutura é conhecida como grampo. Além disso, imediatamente após o grampo, o transcrito de RNA contém um conjunto de Us na sua extremidade 3'. A ligação dos Us aos As correspondentes do DNA-molde é fraca. Isso facilita a separação do RNA recém-sintetizado do seu molde de DNA, enquanto a dupla-hélice se “fecha como um zíper” atrás da *RNA-polimerase*.

b. Terminação dependente de ρ . Esta necessita da participação de uma proteína adicional, rô = fator ρ , uma *adenosina-trifosfatase* (*ATPase*) hexamérica com atividade de *helicase*. O fator ρ liga-se a um “sítio de reconhecimento de rô”, uma região rica em Cs próxima à extremidade 3' do RNA recém-sintetizado e, usando a sua atividade de *ATPase*, move-se pelo RNA até alcançar a *RNA-polimerase* parada no sítio de terminação. A atividade de *helicase dependente de ATP* do fator rô separa a hélice híbrida de RNA-DNA, induzindo a liberação do RNA.

4. Ação dos antibióticos. Alguns antibióticos inibem a síntese de RNA, impedindo que a célula bacteriana cresça. Por exemplo, a rifampicina inibe a iniciação da transcrição ligando-se à subunidade β da *RNA-polimerase* procariótica, interferindo assim na formação da primeira ligação fosfodiéster (Figura 30.10). A rifampicina é útil no tratamento da tuberculose.¹ A dactinomicina (conhecida pelos bioquímicos como actinomicina D) foi o primeiro antibiótico a encontrar aplicação terapêutica na quimioterapia de tumores.² Ela se liga ao molde de DNA e interfere no movimento da *RNA-polimerase* ao longo do DNA.

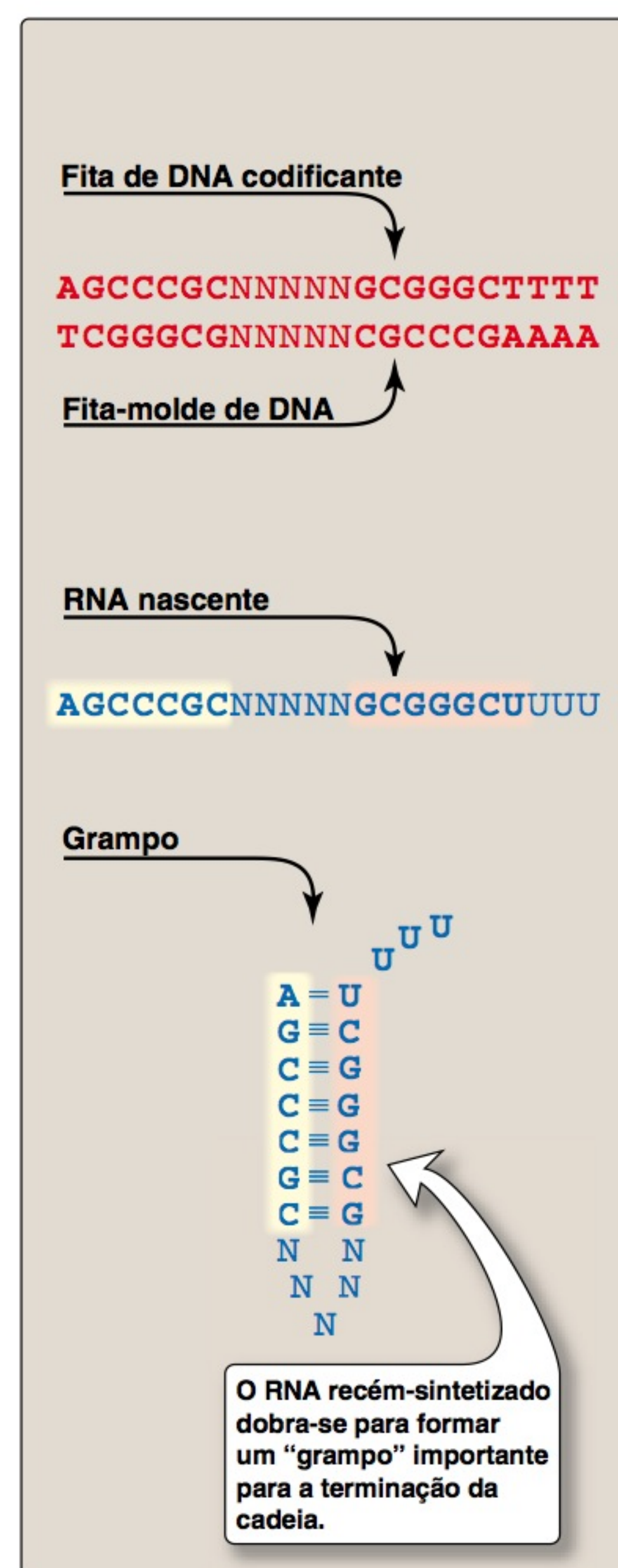


Figura 30.9

Terminação da transcrição independente de rô. A sequência molde do DNA gera uma sequência autocomplementar no RNA nascente. Na parte inferior da Figura, é mostrada uma estrutura em forma de grampo, formada pelo RNA. O “N” representa uma base não complementar.



¹Veja o Capítulo 34 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca do uso da rifampicina no tratamento da tuberculose.

²Veja o Capítulo 39 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão acerca da dactinomicina no tratamento do câncer.

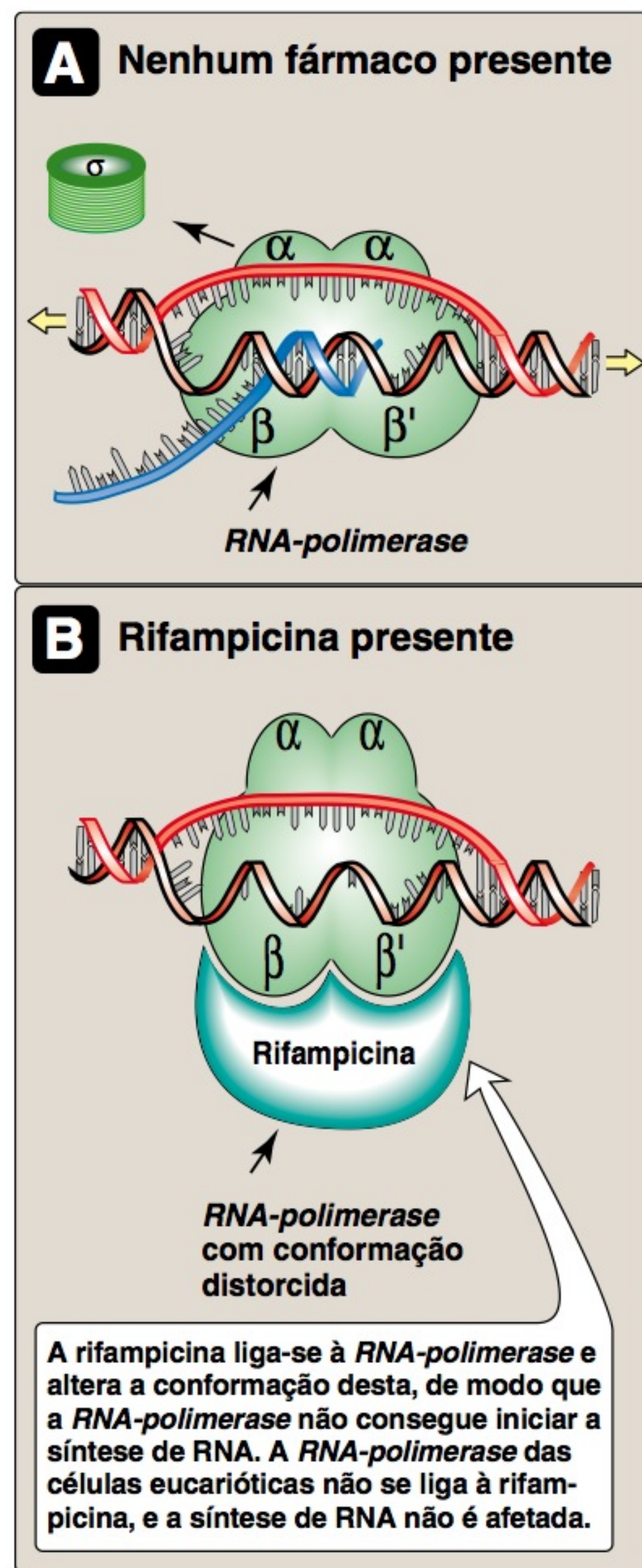


Figura 30.10

Inativação da RNA-polimerase procariótica pela rifampicina.

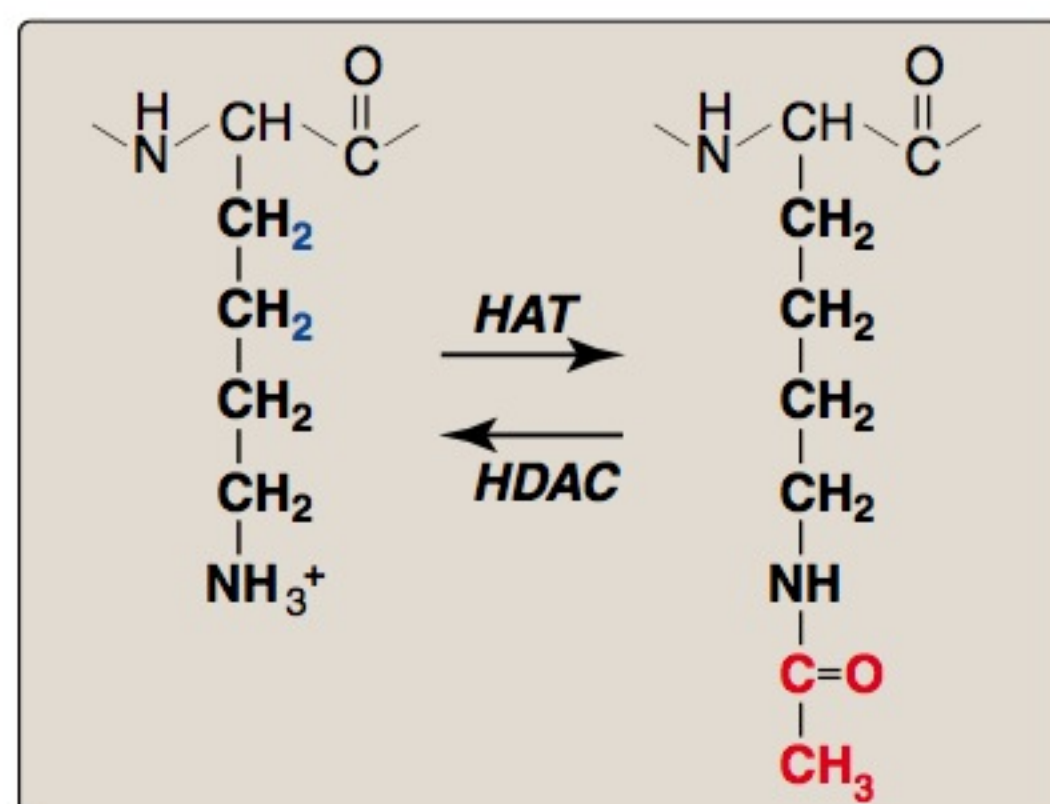


Figura 30.11

Acetilação/desacetilação de um resíduo de lisina em uma proteína histona. HAT = histona acetiltransferase. HDAC = histona desacetilase.

IV. TRANSCRIÇÃO DOS GENES EUCARIÓTICOS

A transcrição dos genes eucarióticos é um processo muito mais complicado do que a transcrição nos procariotos. A transcrição eucariótica envolve *polimerases* diferentes para a síntese de RNAr, RNAt e RNAm. Além disso, várias proteínas chamadas de fatores de transcrição (FT) estão envolvidas. Os FT ligam-se a sítios distintos no DNA – tanto na região promotora básica, quanto próximos a ela (proximais) ou a alguma distância dela (distais). Eles são necessários para a associação do complexo de transcrição ao promotor e para a determinação de quais genes devem ser transcritos. (Nota: cada RNA-polimerase eucariótica possui os seus próprios promotores e FT.) Para os fatores de transcrição reconhecerem e ligarem-se às suas sequências de DNA específicas, a estrutura da cromatina naquela região precisa ser alterada (remodelada) para permitir o acesso ao DNA. O papel exercido pela transcrição para regular a expressão gênica é discutido no Capítulo 32.

A. Estrutura da cromatina e expressão gênica

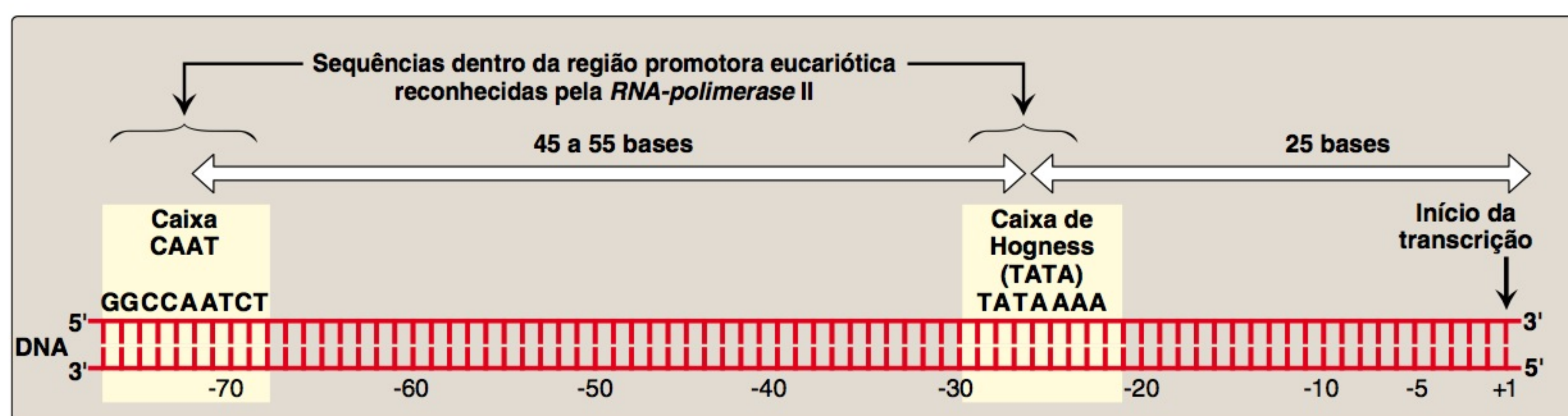
A associação do DNA com as histonas para a formação dos nucleossomos (veja a p. 409) afeta a capacidade de acesso da maquinaria de transcrição ao DNA a ser transcrito. Os genes transcritos mais ativamente são encontrados em uma forma relativamente relaxada de cromatina, chamada de eucromatina, ao passo que os segmentos mais inativos de DNA são encontrados na altamente condensada heterocromatina. (Nota: a interconversão das formas ativa e inativa de cromatina é chamada de remodelamento da cromatina.) Um dos principais mecanismos de remodelamento da cromatina é a acetilação de resíduos de lisina no terminal amino das histonas (Figura 30.11). A acetilação, mediada pelas *histona-acetiltransferases* (HAT), elimina a carga positiva na lisina e assim diminui a interação da histona com o DNA negativamente carregado. A remoção do grupo acetila pelas *histona-desacetilases* (HDAC) restaura a carga positiva e induz interações mais intensas entre as histonas e o DNA.

B. RNA-polimerases nucleares das células eucarióticas

Existem três classes distintas de RNA-polimerases no núcleo das células eucarióticas. Todas são enzimas grandes com múltiplas subunidades. Cada classe de RNA-polimerase reconhece tipos determinados de genes.

- 1. RNA-polimerase I.** Esta enzima sintetiza o precursor dos RNAr 28S, 18S e 5,8S, no nucléolo.
- 2. RNA-polimerase II.** Esta enzima sintetiza os precursores nucleares dos RNAm, posteriormente traduzidos para produzir proteínas. A *polimerase II* também sintetiza determinados RNAnc pequenos, como os RNAsn (veja a p. 426), RNAsno (p. 425) e RNAmi (p. 459).

- a. Promotores e fatores de transcrição para RNA-polimerase II.** Em alguns genes transcritos pela RNA-polimerase II, uma sequência de nucleotídeos quase idêntica àquela da caixa Pribnow (veja a p. 420) é encontrada centrada ao redor de 25 nucleotídeos acima (a montante) do sítio de início da transcrição. Essa sequência promotora consenso é chamada de caixa TATA ou caixa de Hogness. Na posição entre 70 e 80 nucleotídeos a montante do sítio de início de transcrição, é encontrada frequentemente uma segunda sequência consenso, conhecida como caixa CAAT (Figura 30.12). Em outros genes, como, por exemplo, aqueles sempre (“constitutivamente”) expressos, em geral nenhuma caixa TATA está presente. Em vez disso, uma

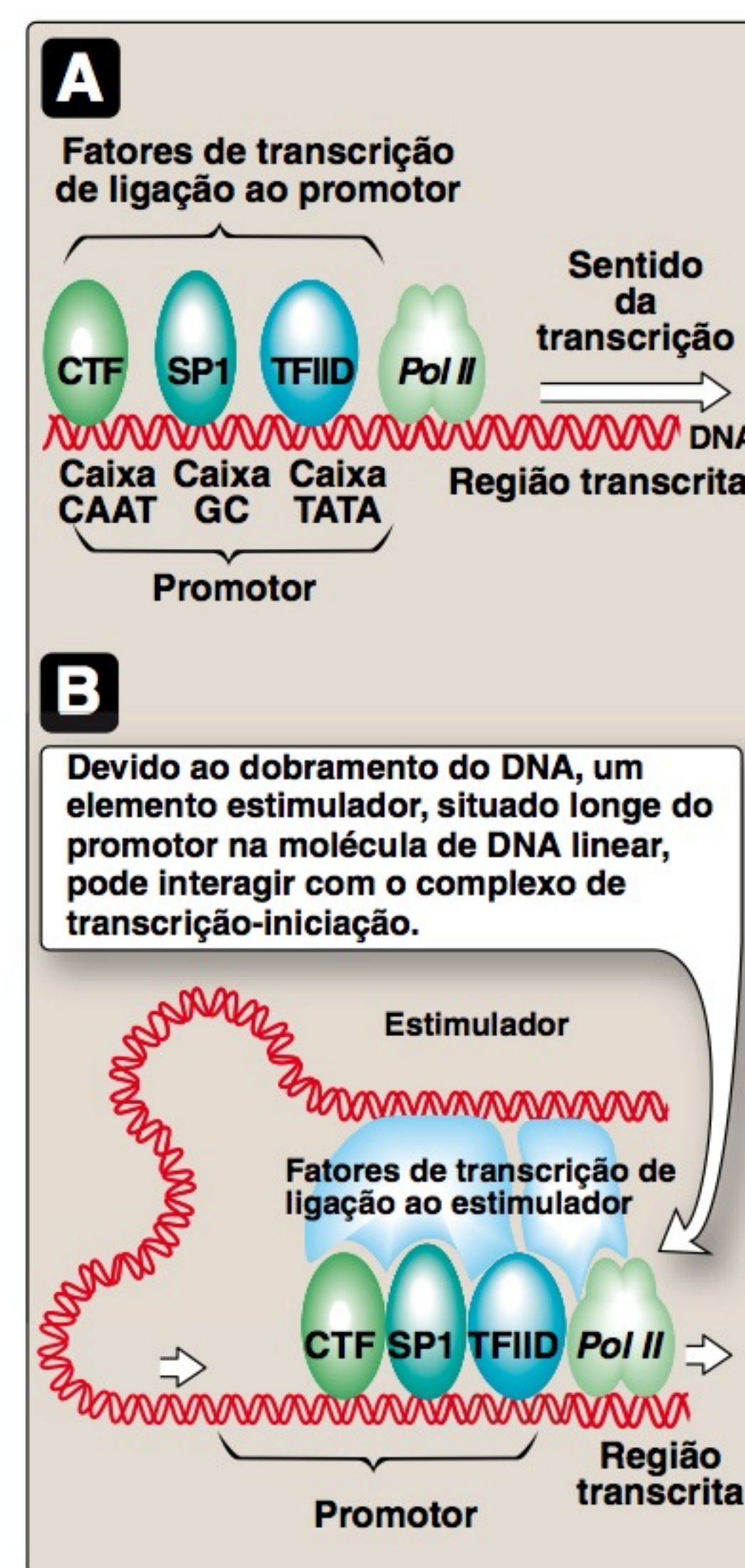

Figura 30.12

Sequências consenso promotoras de genes eucarióticos.

região rica em GC (caixa GC) pode ser encontrada. (Nota: não há uma sequência consenso que seja encontrada em todos os promotores básicos.)* Essas sequências estão na mesma molécula de DNA que o gene sendo transcrito; por isso, são chamadas de elementos de ação cis. Tais sequências servem como sítios de ligação para os FT, que, por sua vez, interagem uns com os outros e com a *RNA-polimerase II*.

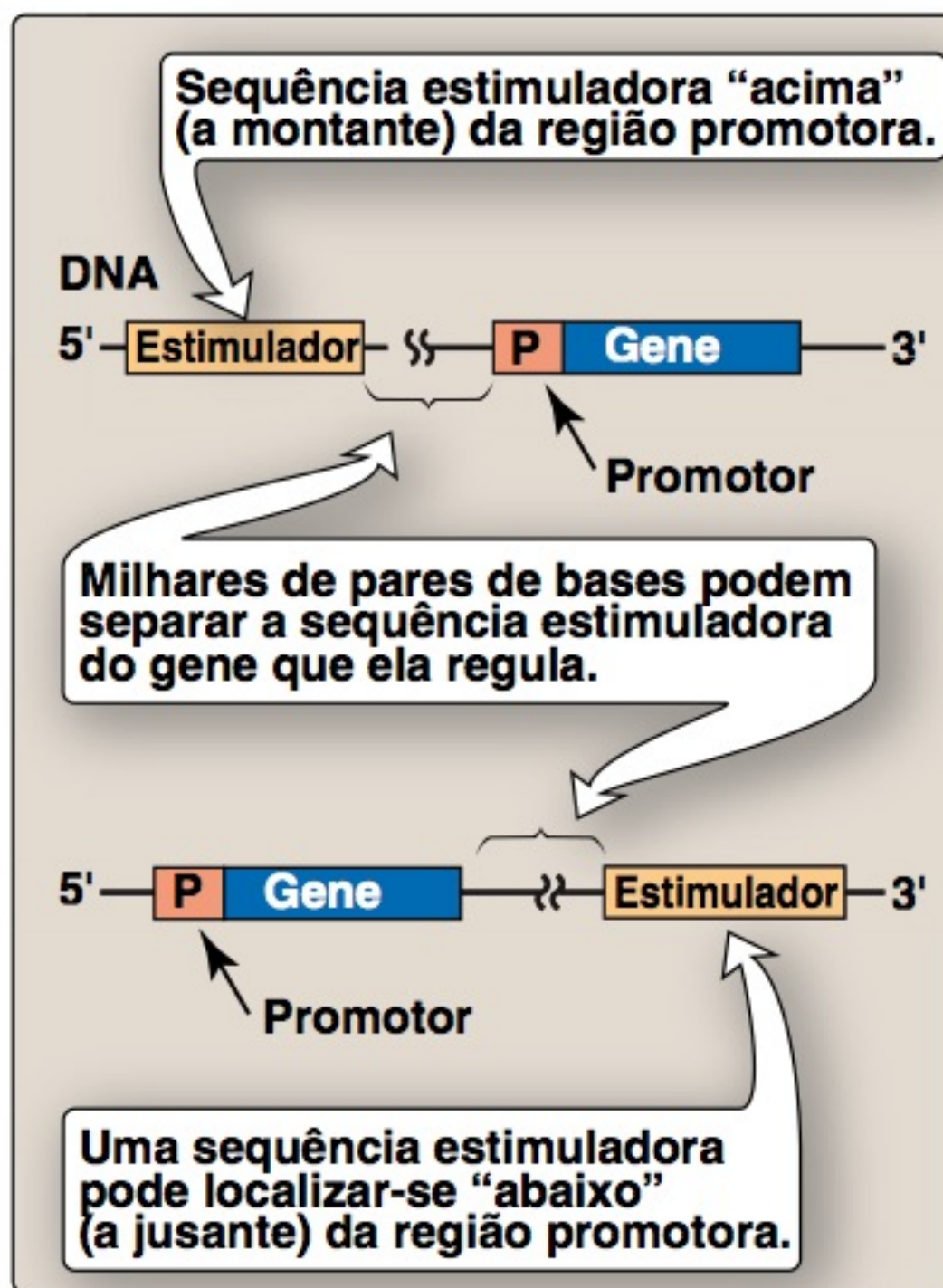
Os fatores de transcrição reconhecem o DNA por meio de uma variedade de motivos de ligação, como o hélice-alça-hélice, os dedos de zinco e os zíperes de leucina (veja a p. 18).

Uma vez que os fatores de transcrição são codificados por diferentes genes e sintetizados no citosol, devendo então transitar para os seus pontos de ação, recebem o nome de elementos de ação trans. Os fatores gerais de transcrição são os requerimentos mínimos para o reconhecimento do promotor, o recrutamento da *RNA-polimerase II* para o promotor e o início da transcrição (Figura 30.13A). (Nota: em contraste com a holoenzima dos procariotos, a *RNA-polimerase II* eucariótica não é capaz, por si própria, de reconhecer e ligar-se ao promotor. Em vez disso, TFIID reconhece e liga-se à caixa TATA, e o TFIIF leva a *polimerase* ao promotor. A atividade de *helicase* de TFIIF desnatura o DNA e sua atividade de *cinase* fosforila a *polimerase*, permitindo que a mesma deixe o promotor.) Fatores de transcrição específicos (ativadores transcricionais) ligam-se a sequências dentro e fora do promotor básico. Eles são necessários para modular a eficiência da iniciação, para mediar a resposta a sinais como hormônios (veja a p. 456) e para regular quais genes são expressos em dado ponto no tempo. Um típico gene eucariótico codificante de proteína possui sítios de ligação para muitos fatores como esses. Além da ligação com o DNA, os FT específicos também ligam-se a outras proteínas (“coativadores”), recrutando-as para o complexo de transcrição. (Nota: os coativadores incluem as enzimas *HAT*, envolvidas no remodelamento da cromatina [veja a p. 422].)


Figura 30.13

A. Fatores gerais de transcrição eucarióticos (CTF, SP1, TFIID) ligam-se a sequências consenso encontradas nos promotores da *RNA-polimerase II*. Fatores gerais de transcrição adicionais (TFIIs) são necessários para a montagem do complexo de iniciação e recrutamento da *polimerase*. B. Ativação por estimulador da *RNA-polimerase II*.

* N. de T. Promotor básico: a sequência mínima do promotor necessária para iniciar a transcrição.

**Figura 30.14**

Algumas possíveis localizações de sequências estimuladoras.

b. Função dos estimuladores na regulação gênica eucariótica.

Os estimuladores são sequências especiais de DNA de ação cis que aumentam a taxa de início da transcrição pela *RNA-polimerase II*. Os estimuladores estão no mesmo cromossomo que o gene cuja transcrição é estimulada por eles (Figura 30.13B). Entretanto, os estimuladores podem (1) estar localizados a montante (para o lado 5') ou a jusante (para o lado 3') do sítio de início de transcrição; (2) estar próximos ou a uma distância de milhares de pares de bases do promotor (Figura 30.14); e (3) ocorrer em qualquer das fitas do DNA. Os estimuladores contêm sequências de DNA chamadas de "elementos de resposta", que se ligam a FT específicos, os quais funcionam como ativadores transcricionais. Por dobramento ou formação de uma alça no DNA, esses fatores de ligação ao estimulador podem interagir com os fatores de transcrição ligados ao promotor e com a *RNA-polimerase II*, estimulando assim a transcrição (veja a Figura 30.13B). (Nota: os silenciadores são semelhantes aos estimuladores quanto a sua capacidade de atuarem a longas distâncias; entretanto, eles reduzem o nível de expressão gênica.)

c. **Inibidores da RNA-polimerase II.** Esta enzima é inibida por α -amanitina – potente toxina produzida pelo cogumelo venenoso *Amanita phalloides* (algumas vezes chamado de "chapéu da morte"). A α -amanitina forma um forte complexo com a *polimerase*, inibindo desse modo a síntese de RNAm e, por fim, a síntese proteica.

3. **RNA-polimerase III.** Esta enzima produz RNAt, RNAr 5S e alguns RNAsn e RNAsno.

C. RNA-polimerase mitocondrial

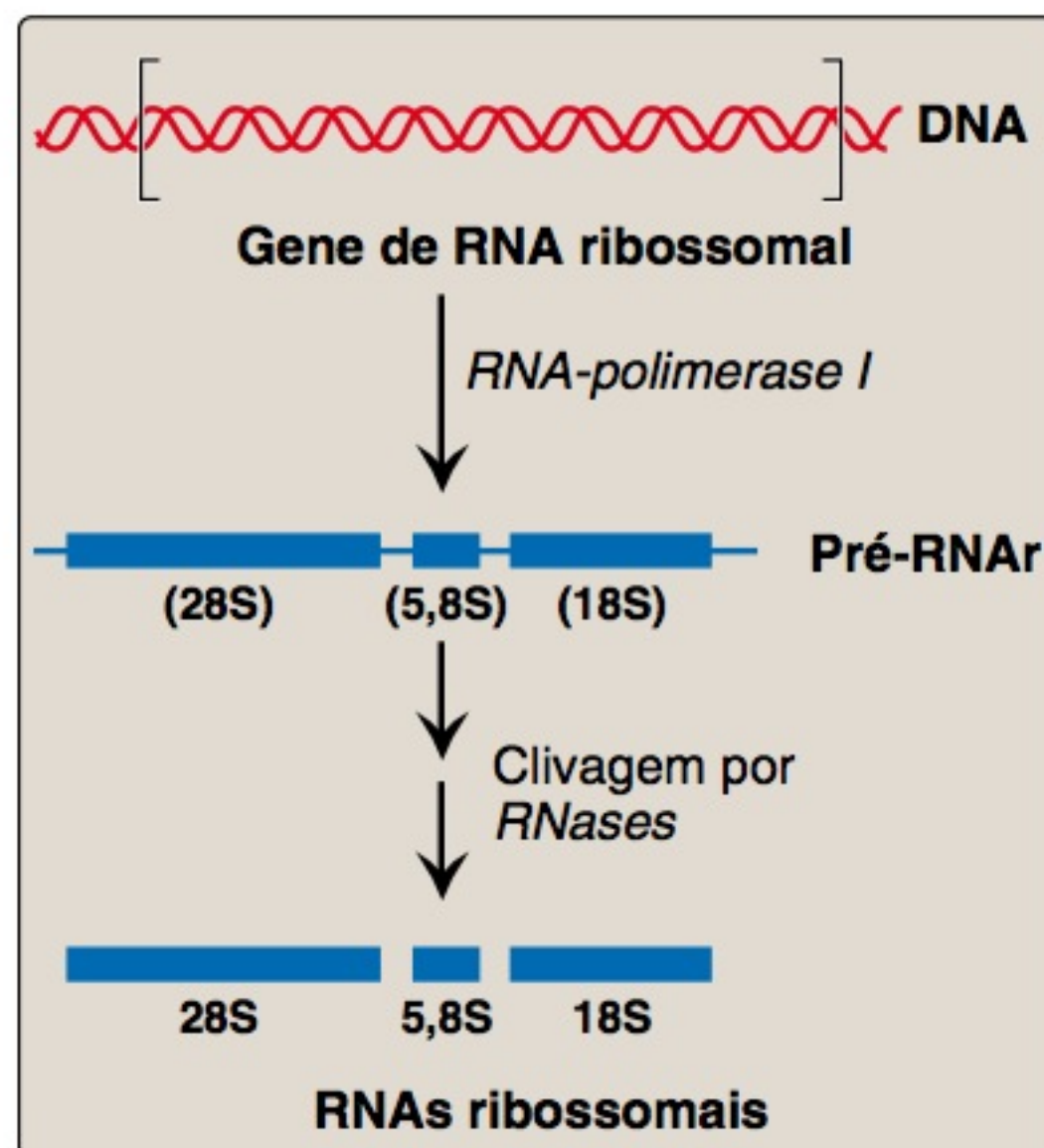
A mitocôndria contém uma única *RNA-polimerase*, que se assemelha mais à *RNA-polimerase* bacteriana do que à enzima eucariótica.

V. MODIFICAÇÕES PÓS-TRANSCRICIONAIS DO RNA

Um transcrito primário é uma cópia inicial, linear do RNA de uma unidade transcripcional – o segmento de DNA entre as sequências específicas de início e término. Os transcritos primários de RNAt e RNAr procarióticos e eucarióticos são modificados pós-transcricionalmente pela clivagem dos transcritos originais por *ribonucleases*. Em seguida, os RNAt são adicionalmente modificados para auxiliar a dar para cada espécie a sua identidade única. Por outro lado, o RNAm procariótico é normalmente idêntico ao seu transcrito primário, ao passo que o RNAm eucariótico é intensamente modificado tanto co como pós-transcricionalmente.

A. RNA ribossomal

Os RNAr de células procarióticas e eucarióticas são sintetizados a partir de longas moléculas precursoras chamadas de RNA pré-ribossomal. Os RNAr 23S, 16S e 5S dos procariotos são produzidos a partir de uma única molécula precursora de RNA, assim como os RNAr 28S, 18S e 5,8S dos eucariotos (Figura 30.15). (Nota: o RNAr 5S dos eucariotos é sintetizado pela *RNA-polimerase III* e modificado separadamente.) O RNA pré-ribossomal é clivado por *ribonucleases* a fim de produzir fragmentos de tamanhos intermediários de RNAr, adicionalmente processados (clivados por *exonucleases* e modificados em algumas bases e riboses) para produzir as espécies necessárias de RNA ribossomal. (Nota: nos eucariotos, os genes de RNAr são encontra-

**Figura 30.15**

Processamento pós-transcricional do RNA ribossomal eucariótico por *ribonucleases* (RNases).

dos em arranjos longos e em *tandem*. A síntese e processamento do RNAr ocorre no nucléolo, sendo as modificações nas bases e açúcares facilitadas pelos pequenos RNA nucleolares [RNAsno]. Algumas das proteínas destinadas a se tornarem componentes do ribossomo associam-se ao precursor de RNAr antes e durante a sua modificação pós-transcricional.)

B. RNA transportador

Os RNAt tanto dos eucariotos como dos procariotos também são produzidos a partir de longas moléculas precursoras que precisam ser modificadas (Figura 30.16). Sequências em ambas as extremidades 5' e 3' da molécula são removidas e, caso presente, um íntron (veja a seguir) é removido da alça do anticódon por *nucleases*. Outras modificações pós-transcricionais incluem a adição de uma sequência –CCA pela *nucleotidiltransferase* na extremidade 3' dos RNAt e a modificação das bases em posições específicas para a produção de “bases raras” características do RNAt (veja a p. 292).

C. RNAm eucariótico

A coleção de todos os transcritos primários sintetizados no núcleo pela *RNA-polimerase II* é conhecida como RNA nuclear heterogêneo (RNAhn). Os componentes pré-RNAm do RNAhn são intensamente modificados no núcleo e pós-transcricionalmente. Essas modificações normalmente incluem:

1. **Adição de um quepe 5'.** Este processo é o primeiro entre as reações de processamento do pré-RNAm (Figura 30.17). O quepe é uma 7-metil-guanosina ligada de forma “invertida” à extremidade 5' do RNAm, formando uma ligação incomum 5'→5' trifosfato. A criação da porção guanosina-trifosfato do quepe necessita da remoção do fosfato γ do 5' trifosfato do pré-RNAm, seguido pela adição de GMP (a partir de GTP) pela enzima nuclear *guanililtransferase*. A metilação dessa guanina terminal ocorre no citosol, catalisada pela *guanina-7-metiltransferase*. A S-adenosilmetionina é a fonte do

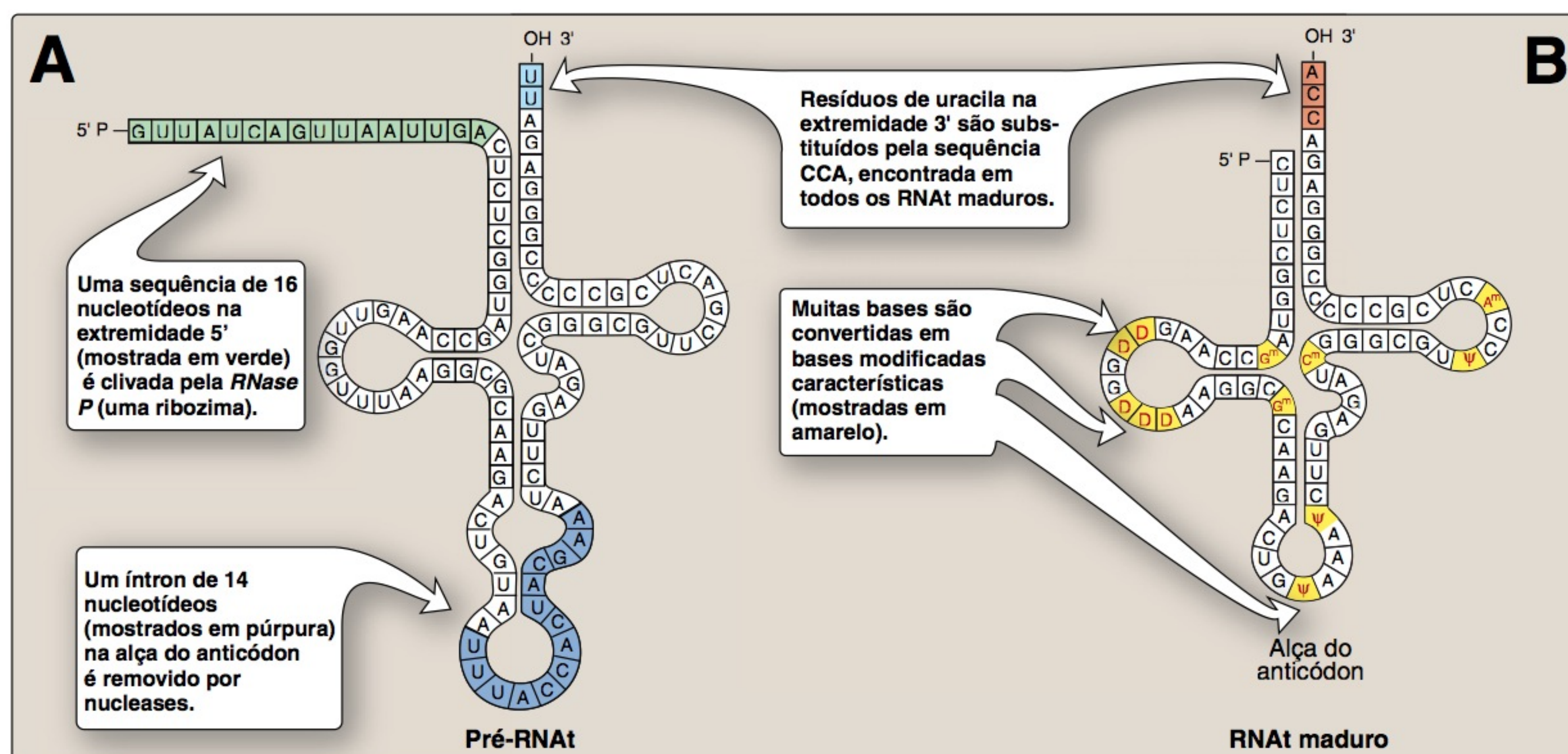
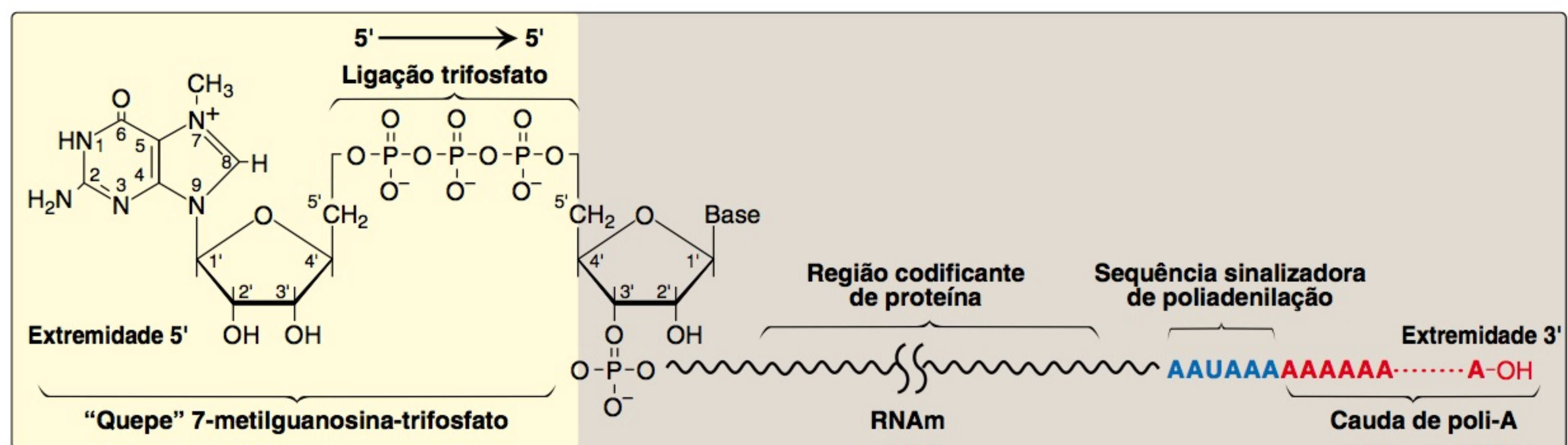


Figura 30.16

A. Transcrito primário de RNAt. B. RNAt funcional após modificação pós-transcricional. As bases modificadas incluem D (di-hidrouracila), ψ (pseudouracila) e m , o que significa que a base foi metilada.

**Figura 30.17**

Modificações pós-transcricionais do RNAm mostrando o quepe 7-metilguanossina e a cauda de poli-A.

grupo metila (veja a p. 264). Etapas de metilação adicionais podem ocorrer. A adição deste "quepe" de 7-metil-guanossina auxilia a estabilização do RNAm e permite o início da tradução (veja a p. 439). Os RNAm eucarióticos sem quepe são traduzidos ineficientemente.

2. **Adição da cauda de poli-A.** A maioria dos RNAm eucarióticos (com várias exceções marcantes, incluindo aqueles que codificam histonas) possui uma cadeia de 40 a 200 nucleotídeos de adenina ligados em sua extremidade 3' (veja a Figura 30.17). Esta cauda de poli-A não é transcrita a partir do DNA, mas sim adicionada após a transcrição pela enzima nuclear *poliadenilato-polimerase*, utilizando ATP como substrato. O RNAm é clivado a jusante de uma sequência consenso, chamada de sequência sinal de poliadenilação (AAUAAA), encontrada próximo à extremidade 3' da molécula de RNA, e a cauda de poli-A é adicionada à nova extremidade 3'. Essa cauda auxilia a estabilizar o RNAm e facilita a sua saída do núcleo. Após o RNAm entrar no citosol, a cauda poli-A é encurtada gradualmente.
3. **Remoção dos íntrons.** A maturação dos RNAm eucarióticos normalmente envolve a remoção de sequências de RNA (íntrons, ou sequências intervenientes), as quais não codificam sequências proteicas, a partir do transcrito primário. As sequências codificantes remanescentes, os éxons, são reunidas para formar o RNAm maduro. O processo de remoção dos íntrons e ligação dos éxons é chamado de corte-junção (do inglês "*splicing*"). A máquina molecular que executa essas tarefas é conhecida como "spliceossoma". Poucos transcritos eucarióticos primários não contêm íntrons, por exemplo, os oriundos de genes de histonas. Alguns contêm pequena quantidade de íntrons, ao passo que outros, como os transcritos primários das cadeias α de colágeno, contêm mais de 50 sequências intervenientes que devem ser removidas antes que o RNAm maduro esteja pronto para a tradução.
 - a. **Função dos pequenos RNA nucleares (RNAsn).** Em associação com proteínas, esses pequenos RNA nucleares (RNAsn), ricos em uracila, formam as pequenas partículas nucleares de ribonucleoproteína (snRNP, do inglês *small nuclear ribonucleoprotein particles*, ou "*snurps*" designados como U1, U2, etc.), que medeiam o processo de corte-junção. Eles facilitam a remoção dos segmentos de íntrons pela formação de pares de bases com as sequências consenso em cada extremidade do íntron (Figura 30.18).



O lúpus eritematoso sistêmico, uma doença inflamatória frequentemente fatal, resulta de uma resposta autoimune em que o paciente produz anticorpos contra proteínas nucleares dele próprio, incluindo as snRNP.

- b. Mecanismo de corte-junção.** A ligação das snRNP traz as sequências de éxons vizinhos no alinhamento correto para o corte-junção. O grupamento 2'-OH de um resíduo de adenosina (A) (conhecido como sítio de ramificação) no íntron ataca o fosfato na extremidade 5' desse íntron (sítio doador de corte-junção), formando uma ligação fosfodiéster incomum 2'→5' e criando uma estrutura "em forma de laço" (veja a Figura 30.18). O recém-liberado 3'-OH do éxon 1 ataca o fosfato-5' do sítio aceitor de corte-junção, formando uma ligação fosfodiéster que liga os éxons 1 e 2. O íntron removido é liberado como uma estrutura em forma de laço que é degradada. (Nota: as sequências GU e AG no início e no final, respectivamente, dos íntrons são invariáveis.) Após os íntrons terem sido removidos e os éxons ligados, as moléculas de RNAm maduras deixam o núcleo, passando para o citosol através de poros na membrana nuclear. (Nota: os íntrons do RNAt [veja a Figura 30.16] são removidos por um mecanismo diferente.)
- c. Efeito de mutações no sítio de corte-junção.** Mutações em sítios de corte-junção podem levar a corte-junções inapropriados e à produção de proteínas aberrantes. Estima-se que 15% de todas as doenças genéticas resultem de mutações que afetam o corte-junção do RNA. Por exemplo, mutações que causam o corte-junção incorreto do RNAm da globina β são responsáveis por alguns casos de talassemia β – doença em que a produção da proteína globina β é defeituosa (veja a p. 38).
- 4. Corte-junção alternativo de moléculas de RNAm.** As moléculas de pré-RNAm de alguns genes podem sofrer corte-junções de maneiras alternativas em diferentes tecidos. Isso produz múltiplas variações de RNAm e, portanto, do produto proteico (Figura 30.19). Esse parece ser um mecanismo para a produção de um conjunto diverso de proteínas a partir de um conjunto limitado de genes. Por exemplo, nas células eucarióticas, o RNAm para a tropomiosina, uma proteína de ligação a filamentos de actina do citoesqueleto (e do aparato contrátil das células musculares), sofre extensivos corte-junção alternativos, os quais são específicos segundo o tecido, produzindo múltiplas isoformas da proteína tropomiosina.

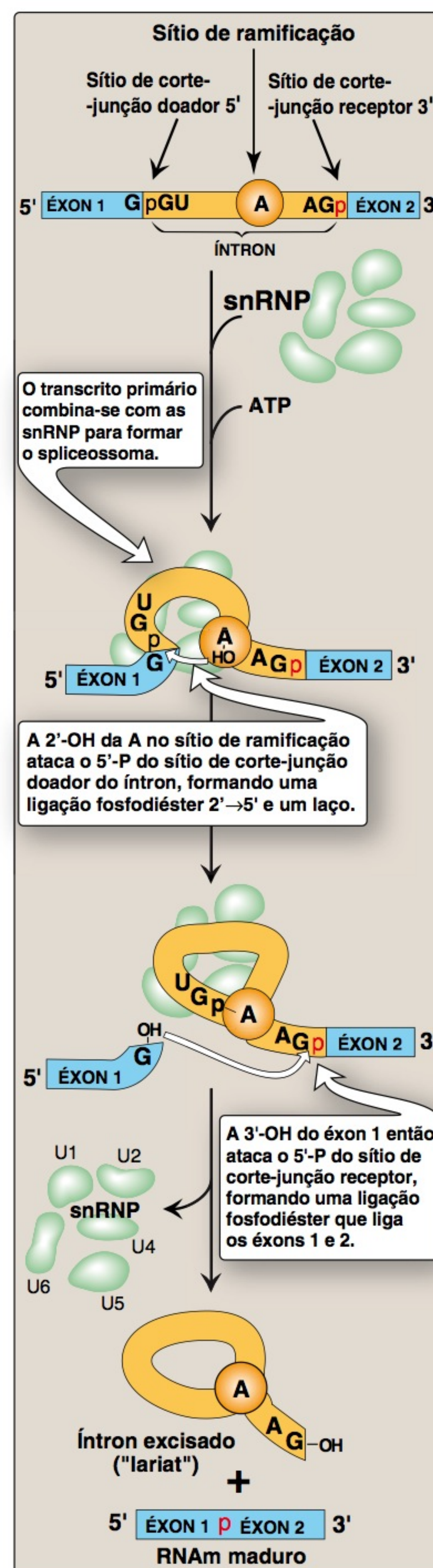


Figura 30.18

Corte-junção ("Splicing"). snRNP = partícula de ribonucleoproteína nuclear pequena.

VI. RESUMO DO CAPÍTULO

Três tipos principais de RNA participam no processo de síntese proteica: **RNA ribossomal (RNAr)**, **RNA transportador (RNAt)** e **RNA mensageiro (RNAm)** (Figura 30.20). Eles são polímeros não ramificados de nucleotídeos, mas diferem do DNA por conterem **ribose** em vez da desoxirribose e **uracila** em vez de timina. O **RNAr** é um componente dos **ribossomos**. O **RNAt** atua como molécula "adaptadora" que carrega um aminoácido específico para o sítio de síntese proteica.

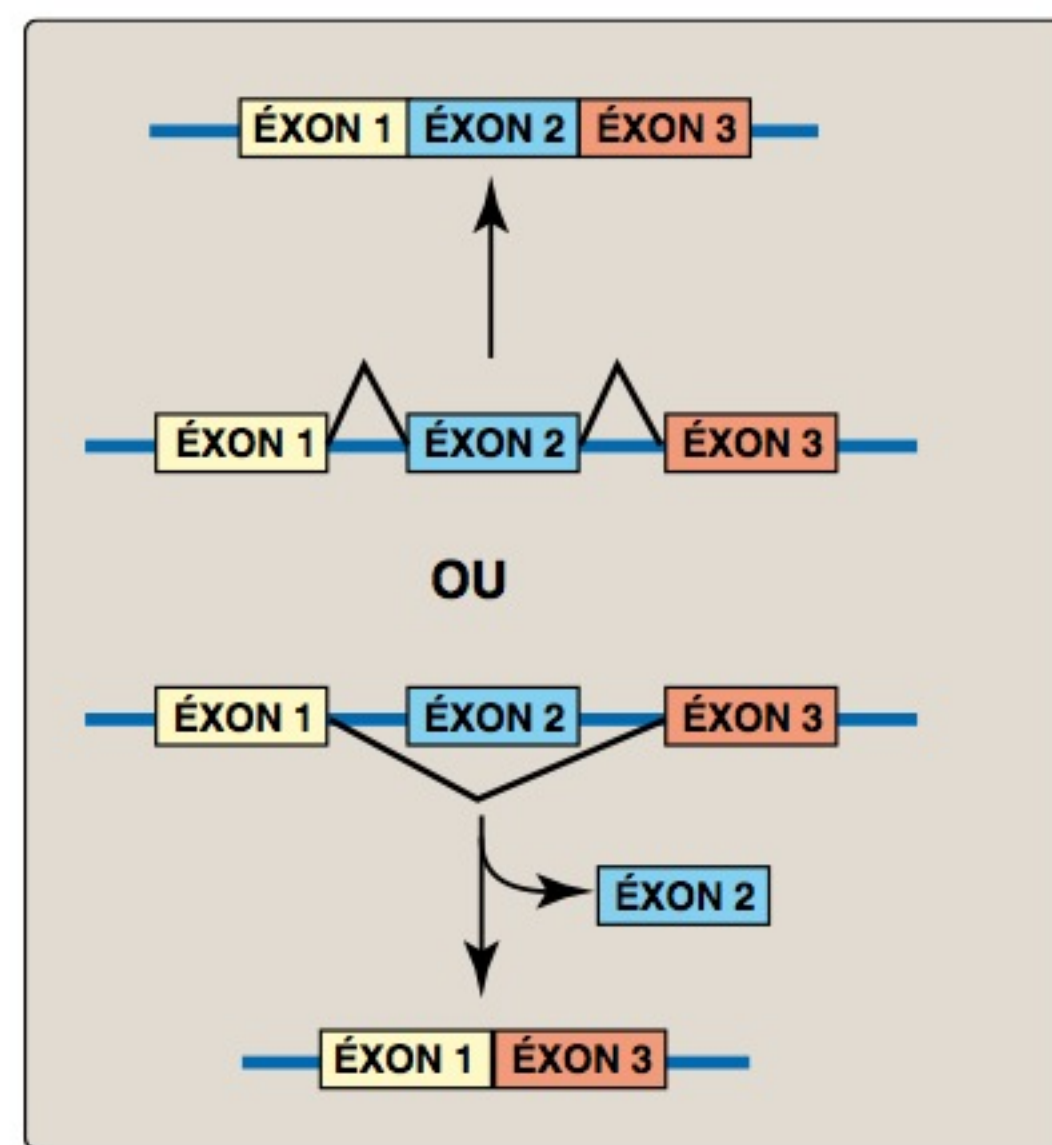


Figura 30.19

Padrões de corte-junção alternativos no RNAm eucariótico.

O **RNAm** carrega a informação genética do DNA nuclear para o citosol, onde é usado como matriz para a síntese proteica. O processo de síntese de RNA é chamado de **transcrição**, e os seus substratos são **ribonucleosídeos trifosfatados**. A enzima que sintetiza o RNA é a **RNA-polimerase**, enzima que contém múltiplas subunidades. Nas **células procarióticas**, a **enzima central** possui cinco subunidades – 2α , 1β , $1\beta'$ e 1Ω – e possui **atividade de polimerase $5' \rightarrow 3'$** , que **alonga** a fita de RNA crescente. Esta enzima necessita de uma subunidade adicional – o **fator sigma (σ)** – que reconhece a sequência nucleotídica (**região promotora**) no começo de um segmento de DNA que vai ser transcrito. Essa região contém **sequências nucleotídicas consenso** características, altamente conservadas, que incluem a **caixa Pribnow** e a **sequência -35** . Outra proteína – o **fator rô (ρ)** – é necessária para a **terminação** da transcrição de alguns genes. Existem três classes distintas de RNA-polimerase no núcleo das células eucarióticas. A **RNA-polimerase I** sintetiza o precursor dos grandes RNAr no nucléolo. A **RNA-polimerase II** sintetiza os precursores dos RNAm e alguns RNAnc no nucleoplasma, e a **RNA-polimerase III** produz os precursores dos RNAt no nucleoplasma. Tanto nos procariotos como nos eucariotos, a RNA-polimerase não necessita de iniciador, nem apresenta atividade de revisão. Os **promotores** para os genes transcritos pela **RNA-polimerase II** contêm sequências consenso, como a **caixa TATA** ou de **Hogness**, a **caixa CAAT** e a **caixa GC**. Elas funcionam como sítios de ligação para proteínas chamadas de **fatores gerais de transcrição**, que, por sua vez, interagem uns com os outros e com a RNA-polimerase II. Os **estimuladores** são sequências de DNA que aumentam a taxa de início de transcrição, ligando-se a **fatores de transcrição específicos**, chamados de ativadores. A transcrição eucariótica necessita que a **cromatina** esteja acessível. Um **transcrito primário** é uma cópia linear de uma **unidade transcricional** – o segmento de DNA entre sequências específicas de início e término. Os transcritos primários dos RNAt e RNAr procarióticos e eucarióticos são **modificados pós-transcricionalmente** pela clivagem dos transcritos originais por ribonucleases. Os **RNAr** de células procarióticas e eucarióticas são sintetizados a partir de longas moléculas precursoras chamadas de **RNA pré-ribossomal**. Esses precursores são clivados e suas extremidades aparadas por ribonucleases, produzindo os três maiores RNAr, e bases e açúcares são modificados. O RNAr 5S eucariótico é sintetizado pela **RNA-polimerase III** e modificado separadamente. O RNAm procariótico é normalmente idêntico ao seu transcrito primário, ao passo que o RNAm eucariótico é intensamente modificado co e pós-transcricionalmente. Por exemplo, um **“quepe” de 7-metilguanossina** é ligado à extremidade 5' do RNAm por meio de uma ligação $5' \rightarrow 5'$. Uma **longa cauda de poli-A** – não transcrita a partir do DNA – está ligada à extremidade 3' da maioria dos RNAm. Muitos RNAm eucarióticos também contêm **sequências intervinientes (íntrons)** que precisam ser removidas para tornar o RNAm funcional. A sua remoção, assim como a **junção das sequências expressas (éxons)**, necessita de um **“spliceossoma”** composto por **pequenas partículas de ribonucleoproteínas nucleares** que medeiam o processo de **corte-junção**. O RNAm eucariótico é monocistrônico, contendo a informação de somente um gene. Os RNAt procarióticos e eucarióticos são também produzidos a partir de longas moléculas precursoras. Caso presente, um íntron é removido por nucleases, e ambas as extremidades da molécula são aparadas por ribonucleases. Uma sequência **CCA-3'** é adicionada, e bases são modificadas em posições específicas, produzindo bases “incomuns”.

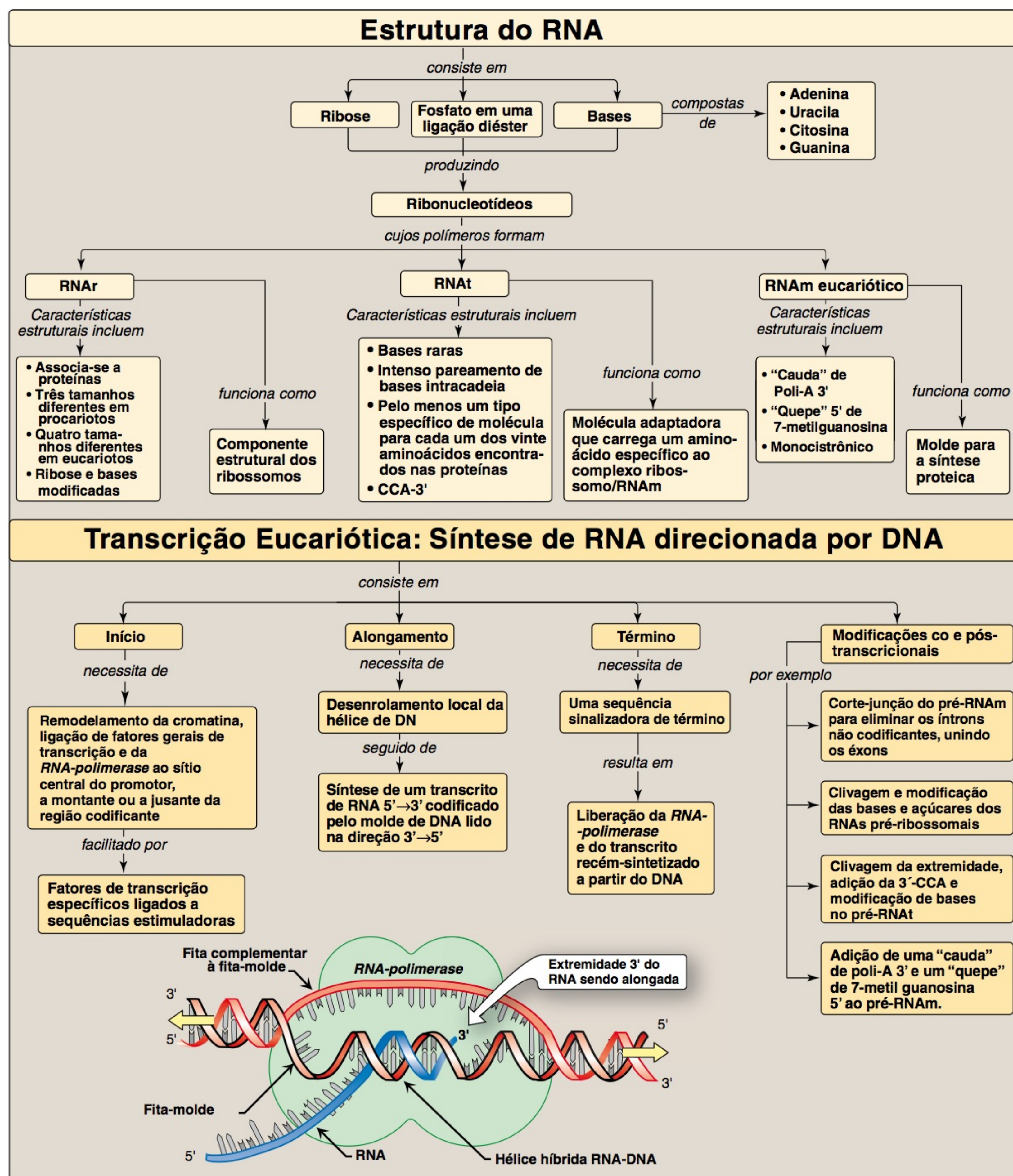


Figura 30.20

Mapa de conceitos-chave para a estrutura e a síntese de RNA.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 30.1 Descobre-se que uma criança do sexo masculino, de um ano de idade, com anemia crônica, apresenta talassemia β . A análise genética mostra que um dos genes de globina β possui mutação que cria um novo sítio de corte-junção receptor, dezenove nucleotídeos acima (a montante) do sítio de corte-junção receptor normal do primeiro íntron. Qual das alternativas seguintes descreve melhor a nova molécula de RNA mensageiro que pode ser produzida a partir desse gene mutante?

A. O éxon 1 será muito curto.
B. O éxon 1 será muito longo.
C. O éxon 2 será muito curto.
D. O éxon 2 será muito longo.
E. O éxon 2 estará faltando.

Resposta correta = D. Uma vez que a mutação adiciona um sítio receptor de corte-junção adicional (a porção 3') a montante do sítio receptor normal no íntron 1, a sequência de 19 nucleotídeos normalmente encontrados na extremidade 3' do laço do íntron 1 excisado pode ficar para trás como parte do éxon 2. O éxon 2 pode, dessa forma, possuir esses 19 nucleotídeos extras na sua extremidade 5'. A presença desses nucleotídeos extras na região codificante na molécula de RNA mensageiro mutante irá impedir que o ribossomo traduza a mensagem em uma molécula proteica de globina β normal. Aqueles RNAm para os quais o sítio de corte-junção normal é usado para remover o primeiro íntron serão normais, e a sua tradução irá produzir a proteína de globina β normal.

- 30.2 A sequência de bases de uma fita de DNA usada como molde para a transcrição é GATCTAC. Qual é a sequência de bases do produto de RNA? (Todas as sequências estão escritas de acordo com a convenção padrão 5'→3'.)

A. CTAGATG.
B. GTAGATC.
C. GAUCUAC.
D. CUAGAUG.
E. GUAGAUC.

Resposta correta = E. O produto de RNA possui uma sequência complementar à sequência da fita-molde de DNA e idêntica à fita de DNA codificadora. A uracila (U) é encontrada no RNA em lugar da timina (T) no DNA. Assim, o molde de DNA 5'- GATCTAC-3' produziria o produto de RNA 3'-CUAGAUG-5' ou, escrito corretamente no sentido padrão, 5'-GUAGAUC-3'.

- 30.3 Uma criança de quatro anos que facilmente se cansa e tem problemas ao caminhar é diagnosticada com a distrofia muscular de Duchenne, doença recessiva ligada ao X. A análise genética mostra que o gene do paciente para a proteína muscular distrofina contém uma mutação na região promotora. Das alternativas listadas abaixo, qual seria o efeito mais provável dessa mutação?

A. O início da transcrição da distrofina será deficiente.
B. O término da transcrição da distrofina será deficiente.
C. A colocação do quepe no RNAm da distrofina será deficiente.
D. O corte-junção do RNAm da distrofina será deficiente.
E. A colocação da cauda no RNAm da distrofina será deficiente.

Resposta correta = A. Mutações no promotor tipicamente impedem a formação do complexo transcrricional da *RNA-polimerase II*, resultando na diminuição de início da síntese de RNAm. Uma deficiência no RNAm da distrofina resulta em deficiência na produção da proteína distrofina. Defeitos na adição de quepe, no processo de corte-junção e na adição de cauda não são consequências de mutações em promotores. Eles podem, entretanto, resultar em RNAm com estabilidade diminuída (defeitos na adição do quepe e da cauda), ou em RNAm nos quais muitos ou muito poucos íntrons tenham sido removidos (defeitos de corte-junção).

- 30.4 Uma mutação para esta sequência no RNAm eucariótico irá afetar o processo pelo qual a cauda de poli-A da extremidade 3' é adicionada ao RNAm.

A. CAAT.
B. CCA.
C. GGGGCG.
D. AAUAAA.
E. TATAAA.

Resposta correta = D. Uma endonuclease cliva o RNAm imediatamente a jusante desse sinal de poliadenilação, criando uma nova extremidade 3', à qual a *polimerase pol A* adiciona a cauda de poli-A, usando ATP como substrato, em um processo independente de molde. CAAT, GGGGCGT e TATAAA são sequências encontradas em promotores da *RNA-polimerase II*. CCA é adicionada à extremidade 3' do RNAt pela *nucleotidiltransferase*.

Síntese Proteica

31

I. VISÃO GERAL

A informação genética, armazenada nos cromossomos e transmitida para as células-filhas por meio da replicação do DNA, é expressa pela transcrição ao RNA e, no caso do RNAm, pela tradução subsequente em proteínas (cadeias polipeptídicas, Figura 31.1). A via de síntese proteica é chamada de tradução porque a “linguagem” da sequência nucleotídica no RNAm é traduzida para a linguagem de uma sequência de aminoácidos. O processo de tradução necessita de um código genético, por meio do qual a informação contida na sequência de ácidos nucleicos é expressa para produzir uma sequência específica de aminoácidos. Qualquer alteração na sequência de ácidos nucleicos pode resultar na inserção de um aminoácido incorreto na cadeia polipeptídica, causando potencialmente doenças ou até mesmo a morte do organismo. Proteínas recém-sintetizadas sofrem vários processos até atingirem a sua forma funcional. Elas precisam dobrar-se apropriadamente, sendo que o dobramento incorreto pode resultar na degradação da proteína. Muitas proteínas são modificadas covalentemente para serem ativadas ou para alterar as suas atividades. Por fim, as proteínas são direcionadas para seus destinos finais, intracelulares ou extracelulares, por sinais presentes nelas próprias.

II. O CÓDIGO GENÉTICO

O código genético é um dicionário que identifica a correspondência entre uma sequência de bases nucleotídicas e uma sequência de aminoácidos. Cada “palavra” individual no código é composta por três bases nucleotídicas. Essas palavras genéticas são chamadas de códons.

A. Códons

Os códons são normalmente apresentados na linguagem do RNA mensageiro de adenina (A), guanina (G), citosina (C) e uracila (U). As suas sequências nucleotídicas são sempre escritas da extremidade 5' para a extremidade 3'. As quatro bases nucleotídicas são usadas para produzir

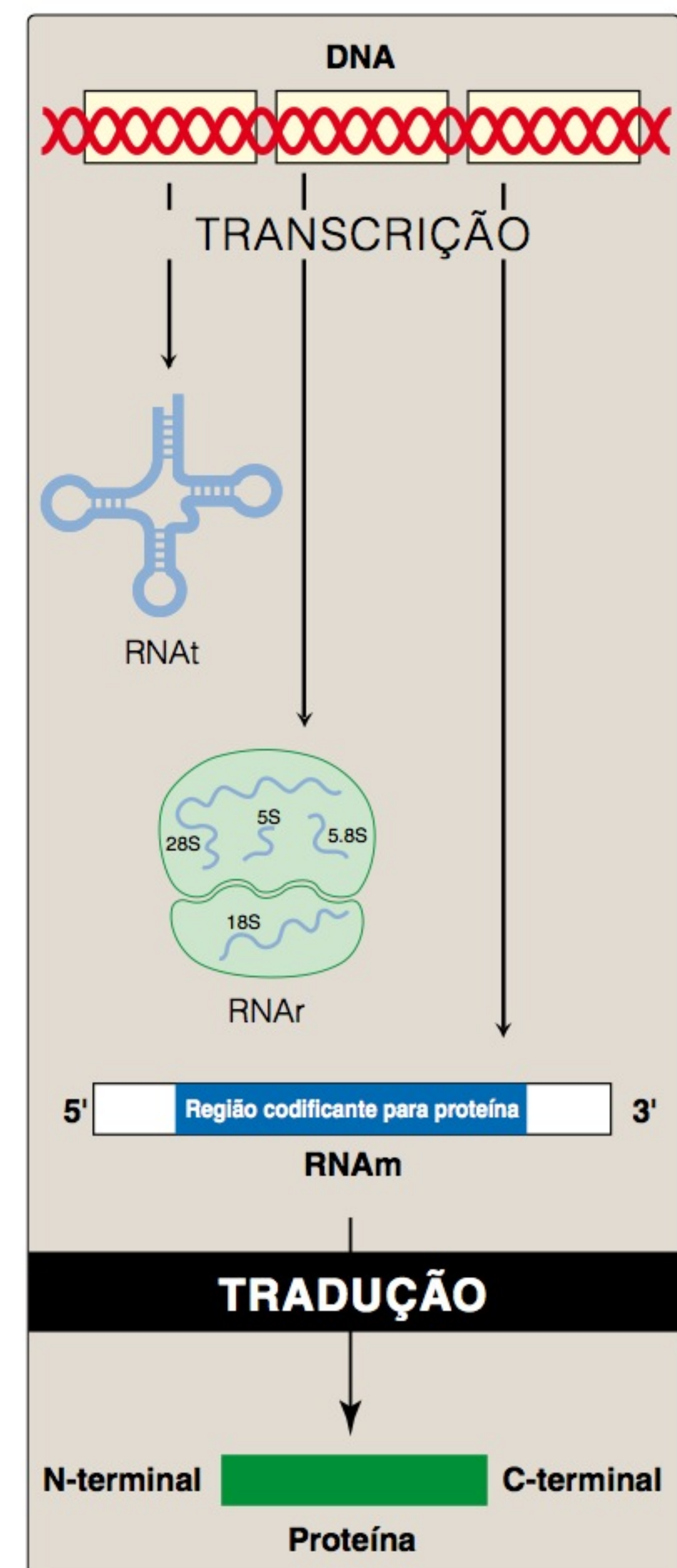


Figura 31.1
Síntese proteica ou tradução.

5' - BASE	BASE INTERMEDIÁRIA				3' - BASE
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Término	Término	A
	Leu	Ser	Término	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

1 Estas quatro linhas mostram dezesseis aminoácidos cujos códons iniciam (5') com A.

2 Esta coluna mostra dezesseis aminoácidos cujos códons possuem como base intermediária U.

4 O códon 5'-AUG-3' designa metionina (Met).

3 Essas quatro linhas separadas mostram dezesseis aminoácidos cujos códons terminam (3') com G.

Figura 31.2

Uso da tabela do código genético para traduzir o códon AUG.

os códons de três bases. Existem, portanto, 64 combinações diferentes de bases, utilizadas três de cada vez (um código de trincas) como mostrado na Figura 31.2.

- 1. Como traduzir um códon.** Essa tabela (ou “dicionário”) pode ser usada para traduzir qualquer sequência de códons e, assim, determinar quais aminoácidos são codificados por uma sequência de RNAm. Por exemplo, o códon 5'-AUG-3' codifica a metionina (veja a Figura 31.2). (Nota: AUG é o códon de início da tradução.) Sessenta e um dos 64 códons codificam os 20 aminoácidos comuns.
- 2. Códons de terminação (“parada” ou “sem sentido”).** Três dos códons – UAG, UGA e UAA – não codificam aminoácidos: são códons de terminação. Quando um desses códons aparece em uma sequência de RNAm, a síntese do polipeptídeo codificado por aquele RNAm termina.

B. Características do código genético

Em todos os organismos vivos, a utilização do código genético demonstra uma consistência notável. Assume-se que uma vez que o código genético padrão tenha evoluído nos organismos primitivos, qualquer mutação que alterasse o seu significado teria modificado quase todas, se não todas, as sequências proteicas, resultando em letalidade. As características do código genético incluem as seguintes:

- 1. Especificidade.** O código genético é específico (não ambíguo), ou seja, um determinado códon sempre codifica o mesmo aminoácido.
- 2. Universalidade.** O código genético é praticamente universal, ou seja, sua especificidade tem sido conservada desde os estágios mais

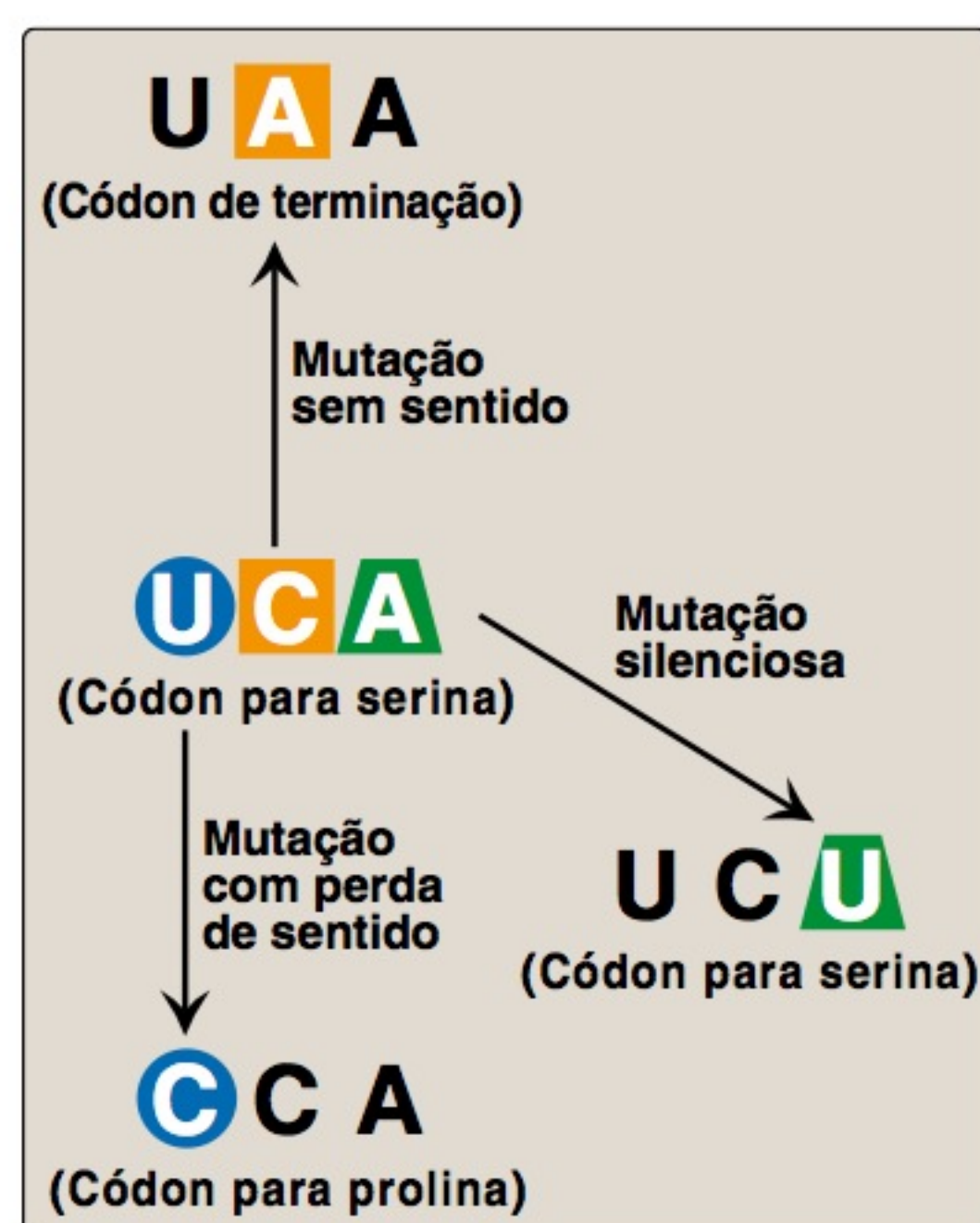


Figura 31.3

Possíveis efeitos de se mudar uma única base nucleotídica na região codificante de uma cadeia de RNAm.

precoces da evolução, somente com leves diferenças na maneira como o código é traduzido. (Nota: uma exceção ocorre na mitocôndria, em que alguns poucos códons possuem significados diferentes daqueles mostrados na Figura 31.2; por exemplo, UGA codifica Trp.)

3. **Degeneração.** O código genético é degenerado (algumas vezes chamado de redundante). Embora cada códon corresponda a um único aminoácido, um dado aminoácido pode possuir mais de uma trinca que o codifica. Por exemplo, a arginina é especificada por seis códons diferentes (veja a Figura 31.2). Somente Met e Trp possuem uma única trinca codificante.
4. **Sem sobreposições e contínuo.** O código genético não apresenta sobreposições e é contínuo, ou seja, o código é lido a partir de um ponto inicial fixo como uma sequência contínua de bases, tomadas três de cada vez. Por exemplo, a sequência AGCUGGAUACAUA é lida como AGC/UGG/AUA/CAU, sem qualquer “pontuação” entre os códons.

C. Consequências da alteração da sequência nucleotídica

A alteração de uma única base nucleotídica na cadeia de RNAm (uma “mutação pontual”) pode levar a um de três resultados (Figura 31.3):

1. **Mutação silenciosa.** O códon contendo a base alterada pode codificar o mesmo aminoácido. Por exemplo, se no códon UCA da serina houver a troca da terceira base por uma diferente – U – para tornar-se UCU, esse códon ainda codifica a serina. Dessa forma, esta mutação é chamada de “silenciosa”.
2. **Mutação com perda de sentido.** O códon contendo a base alterada pode codificar um aminoácido diferente. Por exemplo, se no códon UCA da serina a primeira base for trocada por uma diferente – C – para tornar-se CCA, o novo códon vai codificar um aminoácido diferente, neste caso, a prolina. Essa substituição por aminoácido incorreto é chamada de mutação “com perda de sentido”.
3. **Mutação sem sentido.** O códon contendo a base alterada pode tornar-se um códon de terminação. Por exemplo, se no códon UCA da serina a segunda base for trocada por uma diferente – A – para tornar-se UAA, o novo códon induz o término da tradução naquele ponto e a produção de uma proteína encurtada (truncada). A criação de um códon de terminação em local inapropriado é chamada de mutação “sem sentido”.
4. **Outras mutações** podem alterar a quantidade ou a estrutura da proteína produzida pela tradução:
 - a. **Expansão de repetições trinucleotídicas.** Ocasionalmente, uma sequência de três bases repetidas em *tandem* torna-se amplificada em número, de maneira que ocorrem muitas cópias de uma trinca. Se isso ocorrer no âmbito da região codificante de um gene, a proteína irá conter muitas cópias extras de um aminoácido. Por exemplo, a amplificação do códon CAG leva à inserção de muitos resíduos extras de glutamina na proteína huntintina, causando uma doença neurodegenerativa chamada de doença de Huntington (Figura 31.4). As glutaminas adicionais resultam em proteínas instáveis que induzem o acúmulo de agregados proteicos. Se as repetições de trinucleotídeos ocorrem na porção não traduzida de um gene, o

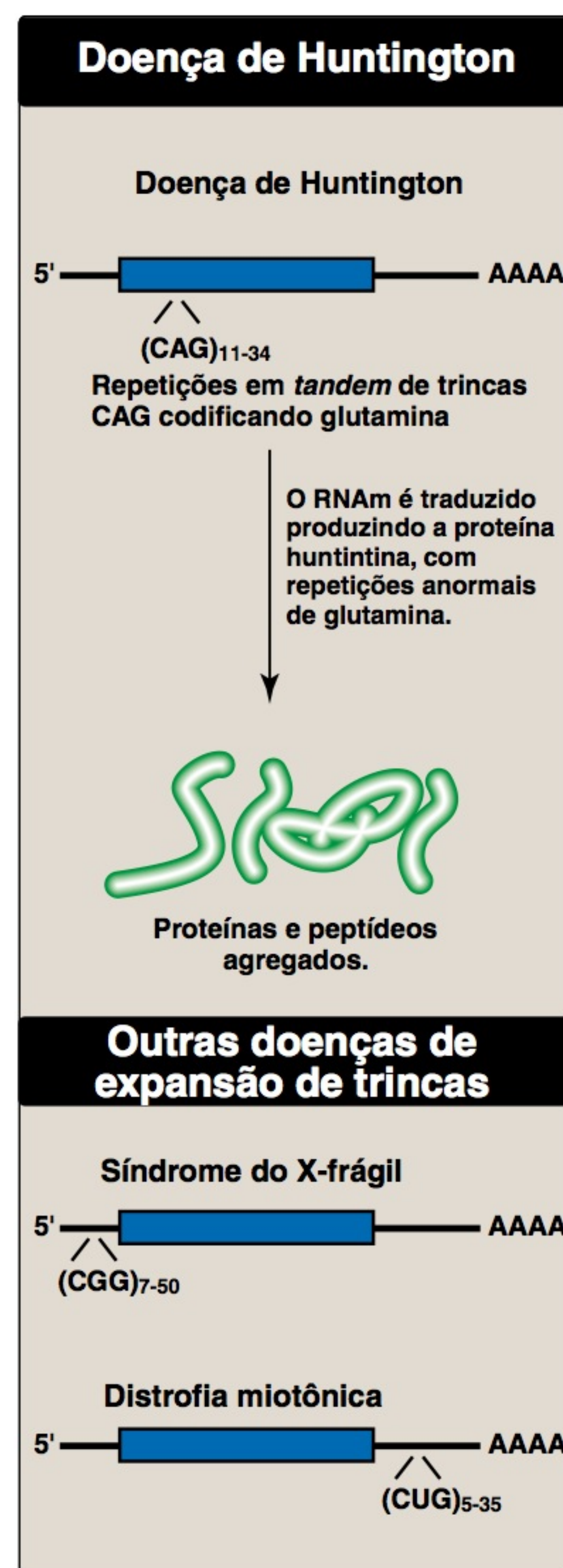
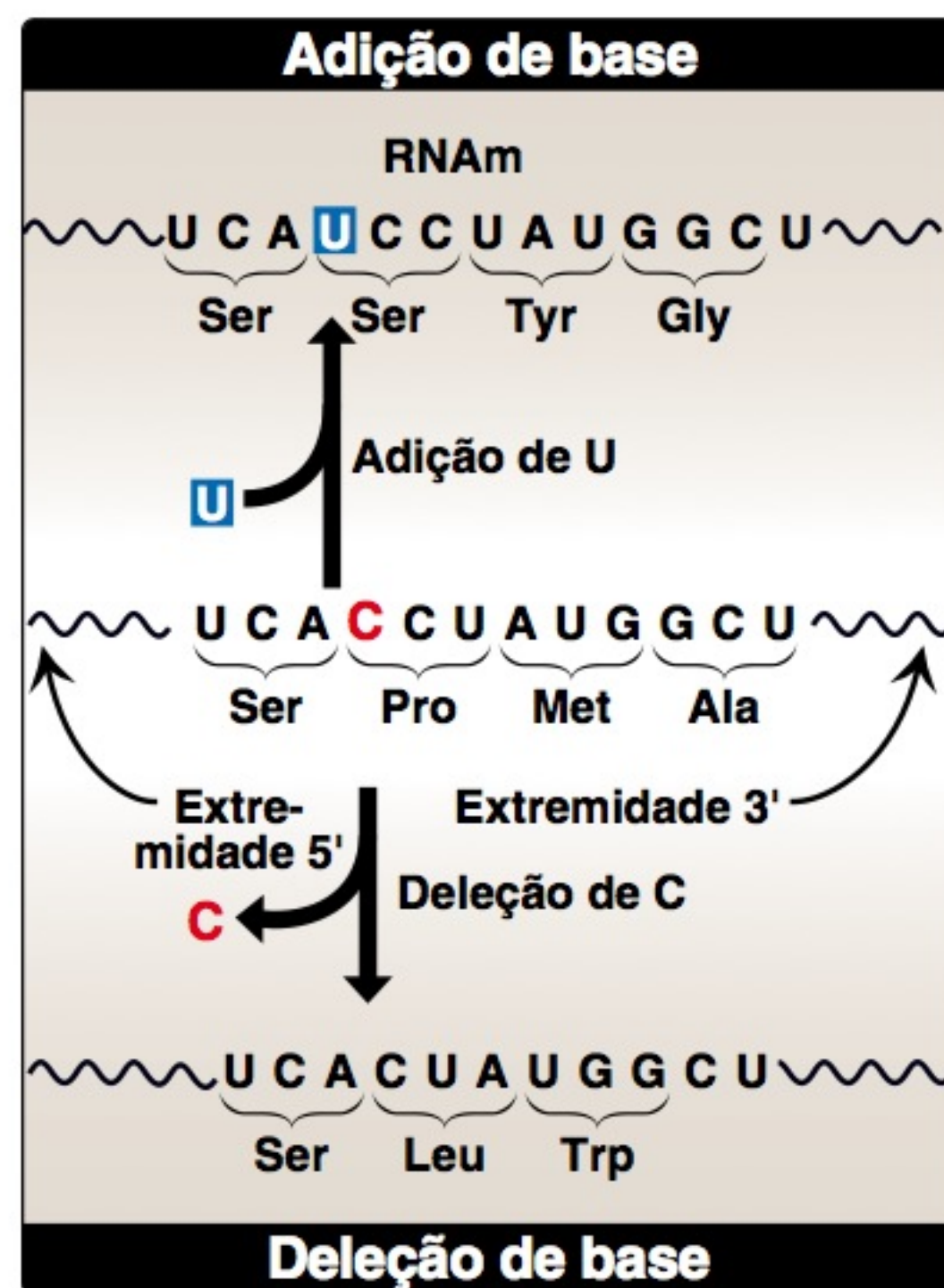
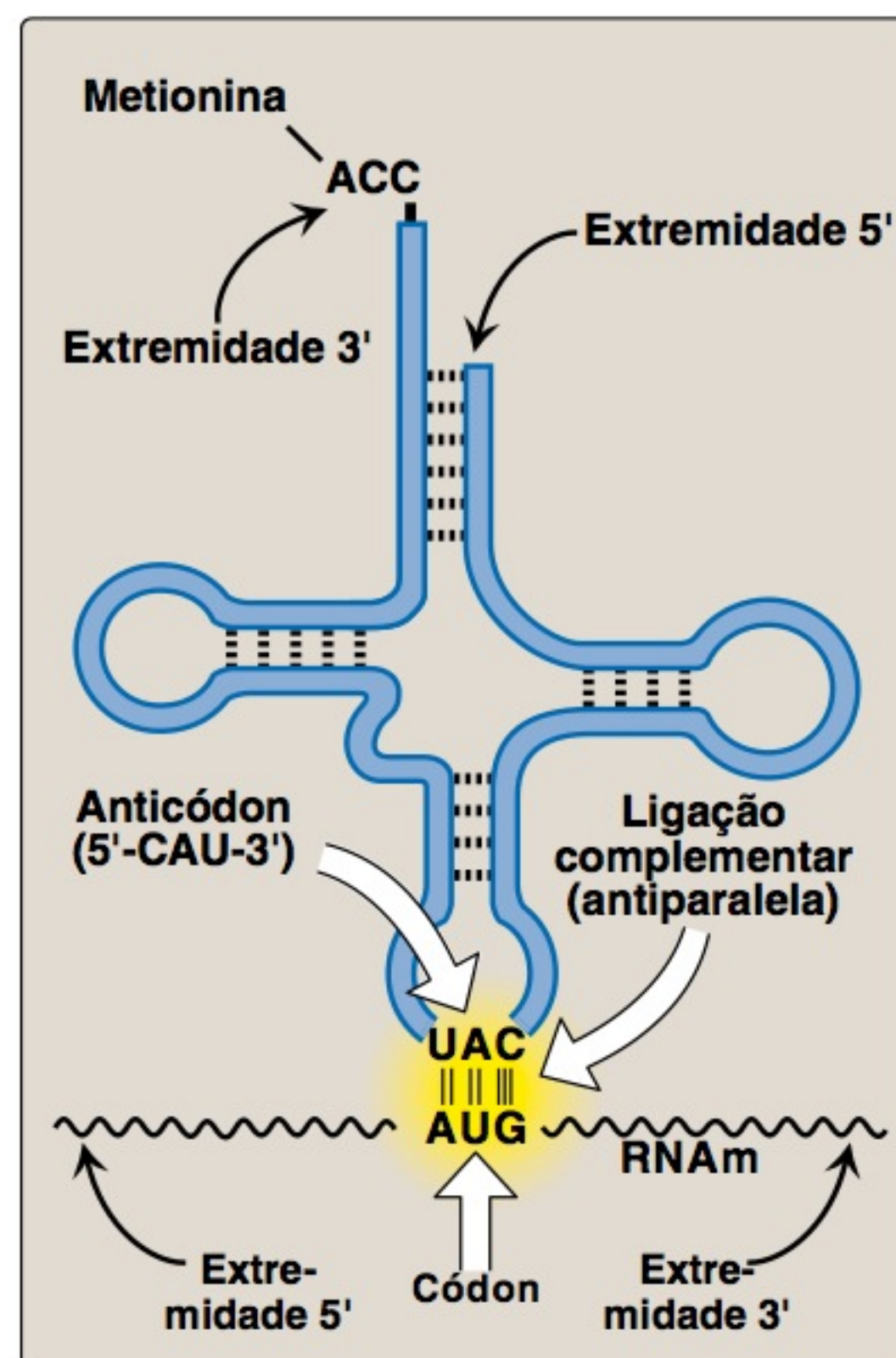


Figura 31.4

Função das trincas repetidas em *tandem* no RNAm causando a doença de Huntington e outras doenças de expansão de trincas.

**Figura 31.5**

Mutações com troca no padrão de leitura resultantes da adição ou deleção de uma base podem causar alteração na leitura do módulo do RNAm.

**Figura 31.6**

Ligação complementar e antiparalela do anticódon do metionil-RNAt (CAU) ao códon do RNAm para metionina (AUG), o códon de início da tradução.

resultado pode ser um decréscimo na quantidade da proteína produzida, como observado, por exemplo, na síndrome do X frágil e na distrofia miotônica. (Nota: na síndrome do X frágil, a causa mais comum de incapacidade intelectual, a expansão resulta no silenciamento gênico por meio da hipermetilação do DNA [veja a p. 460].)

b. Mutações em sítios de corte-junção. Mutações nos sítios de corte-junção (veja a p. 427) podem alterar a maneira pela qual os íntrons são removidos das moléculas de pré-RNAm, produzindo proteínas aberrantes. (Nota: na distrofia miotônica, o silenciamento gênico é o resultado de alterações no corte-junção.)

c. Mutações com alteração do módulo de leitura. Se um ou dois nucleotídeos são perdidos ou adicionados à região codificadora de uma sequência mensageira, ocorre uma mutação com alteração do módulo de leitura e o padrão de leitura é alterado. Isso pode resultar em um produto com sequência de aminoácidos radicalmente diferente, ou em um produto truncado devido à criação de um códon de terminação (Figura 31.5). Se três nucleotídeos forem adicionados, um novo aminoácido será adicionado ao peptídeo; por outro lado, se três nucleotídeos forem deletados, um aminoácido será perdido. A perda de três nucleotídeos mantém o padrão de leitura, mas pode resultar em patologias sérias. Por exemplo, a fibrose cística (FC), doença hereditária que afeta principalmente os sistemas pulmonar e digestório, é mais comumente causada pela deleção de três nucleotídeos da região codificante de um gene, resultando na perda da fenilalanina da posição 508 ($\Delta F508$) da proteína codificada por aquele gene. Essa mutação $\Delta F508$ impede o dobramento normal da proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (PRTFC), levando a sua destruição pelo proteassomo (veja a p. 247). A PRTFC normalmente exerce a função de canal de cloreto nas células epiteliais; a sua perda resulta na produção de secreções espessas e viscosas nos pulmões e pâncreas, levando a danos no pulmão e deficiências digestivas (veja a p. 248). Em mais de 70% dos caucasianos com FC, a mutação $\Delta F508$ é a causa da doença.

III. COMPONENTES NECESSÁRIOS PARA A TRADUÇÃO

Um grande número de componentes é necessário para a síntese de uma proteína. Eles incluem todos os aminoácidos encontrados no produto final, o RNAm a ser traduzido, o RNA transportador (RNAt) para cada aminoácido, os ribossomos funcionais, as fontes de energia e as enzimas, além dos fatores proteicos necessários para o início, o alongamento e a terminação da cadeia polipeptídica.

A. Aminoácidos

Todos os aminoácidos que, por fim, aparecem na proteína completa devem estar presentes no momento da síntese proteica. (Nota: se um aminoácido está faltando [p. ex., se a dieta não contém um aminoácido essencial, veja p. 261], a tradução é interrompida no códon que especifica aquele aminoácido. Isso demonstra a importância de se possuir todos os aminoácidos essenciais em quantidades suficientes na dieta para garantir uma síntese proteica continuada.)

B. RNA transportador (RNAt)

Pelo menos um tipo específico de RNAt é necessário para cada aminoácido. Em humanos existem pelo menos 50 espécies de RNAt, ao passo que as bactérias contêm de 30 a 40 espécies. Uma vez que existem somente 20 aminoácidos diferentes transportados pelos RNAt, alguns aminoácidos possuem mais de uma molécula de RNAt específica. Isso é especialmente verdadeiro para aqueles aminoácidos codificados por vários códons.

1. **Sítio de ligação ao aminoácido.** Cada molécula de RNAt possui um sítio de ligação para um aminoácido específico (cognato) na sua extremidade 3' (Figura 31.6). O grupo carboxila do aminoácido estabelece uma ligação éster com a hidroxila 3' da porção ribosídica do nucleotídeo de adenosina (A) na sequência –CCA da extremidade 3' do RNAt. (Nota: quando um RNAt possui um aminoácido ligado covalentemente, é tido como carregado; quando o RNAt não está ligado a um aminoácido, é descrito como não carregado. Diz-se que o aminoácido ligado à molécula de RNAt está ativado.)
2. **Anticódon.** Cada molécula de RNAt também contém uma sequência de nucleotídeos de três bases – o anticódon – que reconhece um códon específico no RNAm (veja a Figura 31.6). Esse códon especifica a inserção na cadeia peptídica em crescimento do aminoácido carregado por aquele RNAt.

C. Aminoacil-RNAt sintetases

Esta família de enzimas é necessária para a ligação dos aminoácidos aos seus RNAt correspondentes. Cada membro dessa família reconhece um aminoácido específico e todos os RNAt que correspondem àquele aminoácido (RNAt isoceptores). As *aminoacil-RNAt sintetases* catalisam uma reação de duas etapas que resulta na ligação covalente do grupamento carboxila de um aminoácido à extremidade 3' do seu RNAt correspondente (cognato). A reação geral necessita de trifosfato de adenosina (ATP), que é clivado em monofosfato de adenosina (AMP) e pirofosfato inorgânico (PP_i) (Figura 31.7). A grande especificidade da *sintetase* no reconhecimento tanto do aminoácido quanto de seu RNAt específico contribui para a alta fidelidade da tradução da mensagem genética. Além disso, as *sintetases* possuem atividade de “revisão” ou “edição”, que pode remover aminoácidos da enzima ou da molécula de RNAt.

D. RNA mensageiro (RNAm)

O RNAm específico necessário como molde para a síntese da cadeia polipeptídica desejada deve estar presente. (Nota: interações entre as proteínas que se ligam ao quepe-5' (proteínas eIF-4) e à cauda-3' (proteínas de ligação a poli-A) do RNAm eucariótico medeiam a formação de estruturas circulares* do RNAm e provavelmente impedem o uso de RNAm não completamente processado na tradução.)

E. Ribossomos funcionalmente competentes

Os ribossomos são grandes complexos de proteína e RNA ribossomal (RNAr, Figura 31.8). Eles consistem em duas subunidades – uma grande e uma pequena – cujos tamanhos relativos são dados geralmente em termos dos seus coeficientes de sedimentação, ou valores S (Svedberg). (Nota: de-

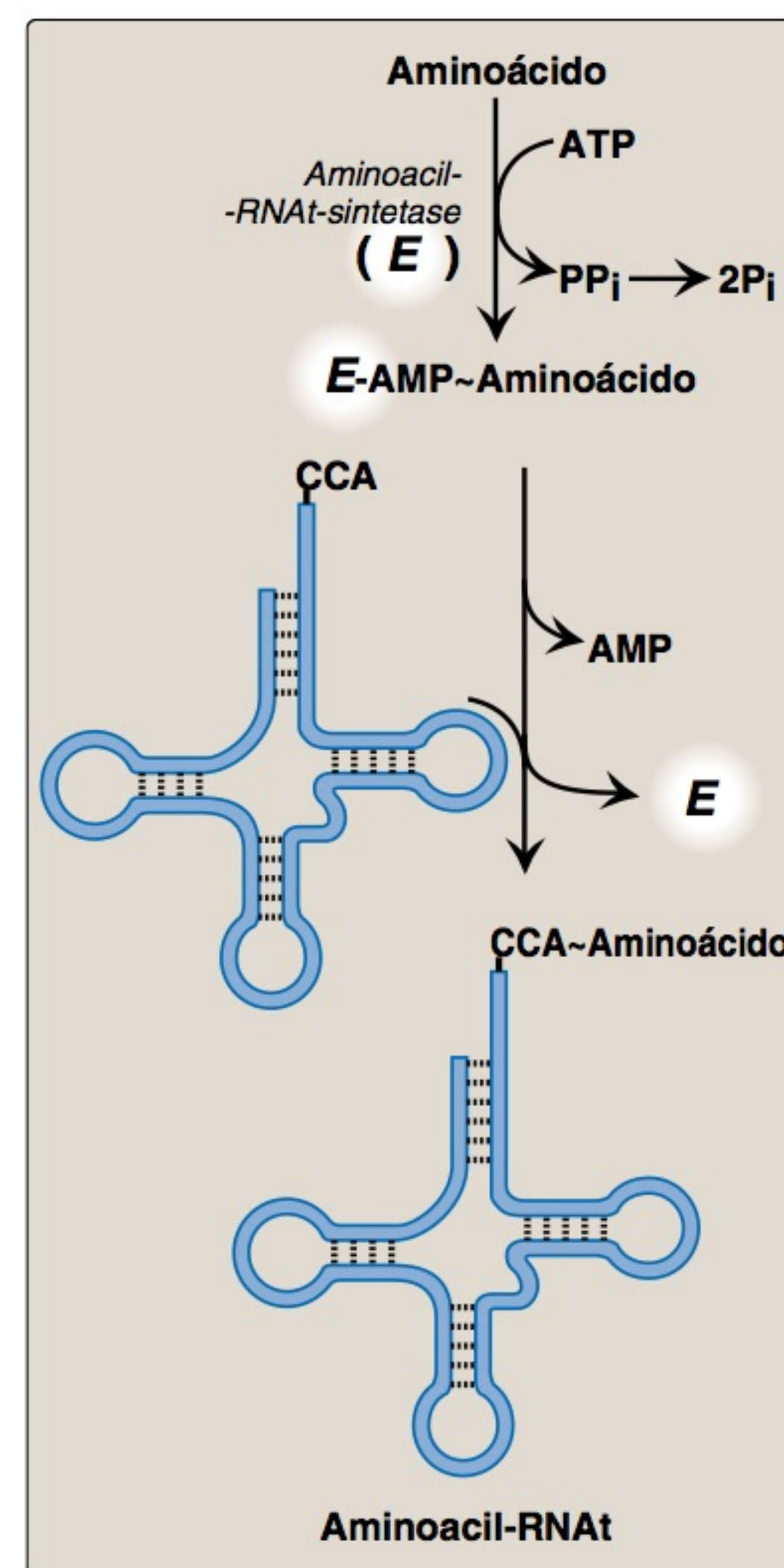
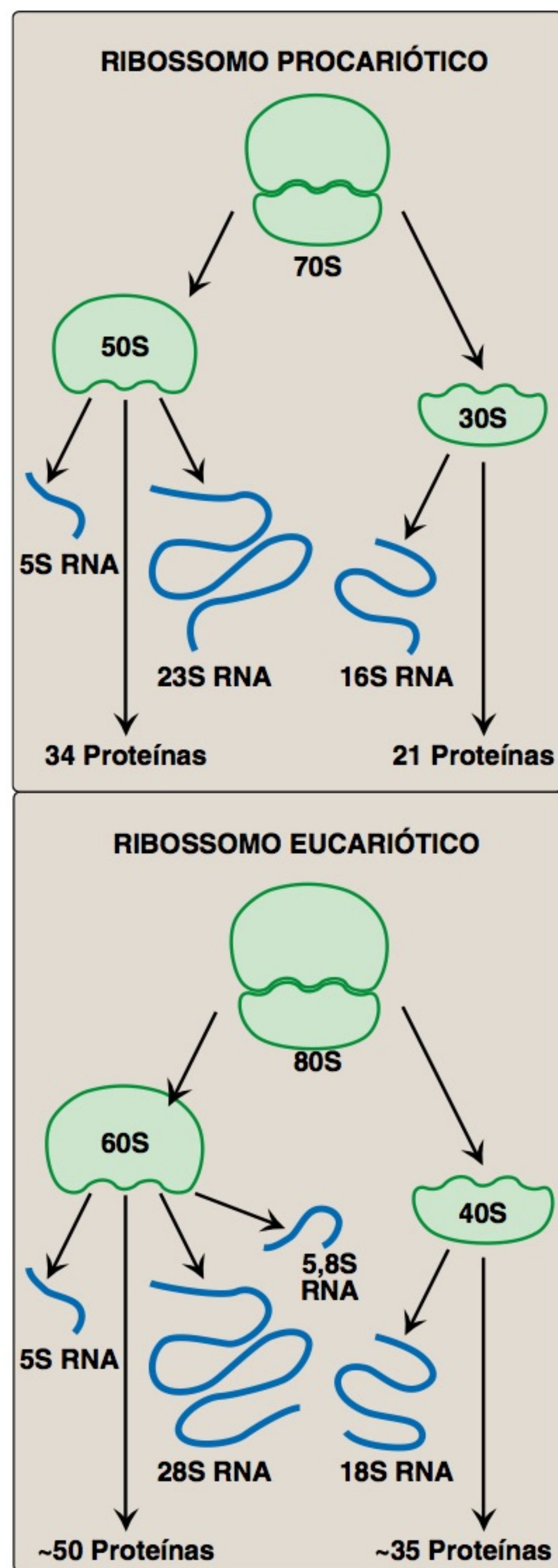


Figura 31.7

Ligação de um aminoácido específico ao seu RNAt correspondente pela *aminoacil-RNAt-sintetase* (E).

* N. de T. Acredita-se que, no RNAm eucariótico, estruturas circulares resultem de interações entre fatores proteicos que ligam o quepe 5' e a cauda poli-A, facilitando a reciclagem dos ribossomos, com maior eficiência da tradução.

**Figura 31.8**

Composição ribossomal. (O número de proteínas nas subunidades ribossomais eucarióticas apresenta certa variação de espécie para espécie.)

vido aos valores S serem determinados tanto pela forma como pela massa molecular, os seus valores numéricos não são estritamente aditivos. Por exemplo, as subunidades ribossomais procarióticas 50S e 30S juntas formam um ribossomo 70 S. As subunidades eucarióticas 60S e 40S formam um ribossomo de 80S.) Os ribossomos procarióticos e eucarióticos são semelhantes em estrutura e apresentam a mesma função, a saber, atuam como complexos macromoleculares onde a síntese proteica ocorre.

A subunidade ribossomal menor liga-se ao RNAm, sendo responsável pela fidelidade da tradução, promovendo o correto pareamento de bases entre o códon no RNAm e o anticódon no RNAt. A subunidade ribossomal maior catalisa a formação das ligações peptídicas que unem os resíduos de aminoácidos em uma proteína.

- 1. RNA ribossomal.** Como discutido na página 418, os ribossomos procarióticos contêm três tipos de RNAr, ao passo que os ribossomos eucarióticos contêm quatro espécies de RNAr (veja a Figura 31.8). Os RNAr são gerados a partir de um único pré-RNAr pela ação de *ribonucleases* e algumas bases e riboses são modificadas.
- 2. Proteínas ribossomais.** As proteínas ribossomais estão presentes em números consideravelmente maiores nos ribossomos eucarióticos do que nos ribossomos procarióticos. Elas desempenham vários papéis na estrutura e função dos ribossomos e em suas interações com outros componentes do sistema de tradução.
- 3. Sítios A, P e E no ribossomo.** O ribossomo possui três sítios de ligação para as moléculas de RNAt: os sítios A, P e E. Cada sítio se estende ao longo das duas subunidades. Juntos, eles cobrem três códons vizinhos. Durante a tradução, o sítio A liga-se ao aminoacil-RNAt que está chegando, conforme instruído pelo códon que ocupa no momento esse sítio. Esse códon especifica o próximo aminoácido a ser adicionado na cadeia peptídica em crescimento. O códon do sítio P é ocupado pelo peptidil-RNAt. Este RNAt carrega a cadeia de aminoácidos já sintetizada. O sítio E é ocupado pelo RNAt vazio, pois está prestes a deixar o ribossomo. (Veja a Figura 31.13, para uma ilustração sobre a função dos sítios A, P e E na tradução.)
- 4. Localização celular dos ribossomos.** Nas células eucarióticas, os ribossomos estão “livres” no citosol ou em associação íntima com o retículo endoplasmático (chamado então de retículo endoplasmático “rugoso”, ou RER). Os ribossomos associados ao RER são responsáveis pela síntese das proteínas que devem ser exportadas da célula, assim como daquelas destinadas a serem integradas à membrana plasmática e às membranas do retículo endoplasmático ou do aparelho de Golgi, ou a serem incorporadas aos lisossomos (veja a p. 169 para uma visão geral do último processo). Os ribossomos citosólicos sintetizam as proteínas necessárias para o próprio citosol, ou destinadas para o núcleo, a mitocôndria e os peroxissomos. (Nota: as mitocôndrias contêm o seu próprio conjunto de ribossomos e o seu próprio DNA circular único. A maioria das proteínas mitocondriais, entretanto, é codificada pelo DNA nuclear, sintetizada no citosol e direcionada pós-traducionalmente para a mitocôndria.)

F. Fatores proteicos

Os fatores de iniciação, alongamento e terminação (ou liberação) são necessários para a síntese proteica. Alguns desses fatores proteicos desempenham funções catalíticas, já outros parecem estabilizar a maquinaria de síntese. (Nota: vários dos fatores são proteínas G, portanto, estão ativos quando ligados a GTP e inativos quando ligados a GDP.)

G. ATP e GTP são necessários como fontes de energia

A clivagem de quatro ligações de alta energia é necessária para a adição de um aminoácido à cadeia polipeptídica em crescimento: duas a partir do ATP na reação da *aminoacil-RNAt-sintetase* – uma na remoção do PP_i e uma na hidrólise subsequente do PP_i a fosfato inorgânico pela *pirofosfatase* – e duas a partir do GTP – uma para a ligação do aminoacil-RNAt ao sítio A e uma para a etapa de translocação (veja a Figura 31.13, p. 440). (Nota: moléculas adicionais de ATP e GTP são necessárias para a iniciação em eucariotos, e uma molécula adicional de GTP é necessária para a terminação em eucariotos e procariotos.)

IV. RECONHECIMENTO DOS CÓDONS PELO RNAT

O pareamento correto do códon no RNAm com o anticódon no RNAt é essencial para uma tradução fidedigna (veja a Figura 31.6). Alguns RNAt reconhecem mais de um códon para um dado aminoácido.

A. Ligação antiparalela entre o códon e o anticódon

A ligação do anticódon do RNAt ao códon do RNAm segue as regras da ligação complementar e antiparalela, ou seja, o códon do RNAm é “lido” de 5'→3' por um anticódon que com ele pareia na orientação “invertida” (3'→5') (Figura 31.9). (Nota: sequências nucleotídicas SEMPRE são assumidas como indicadas no sentido 5'→3', a não ser que seja indicado de outra forma.)

B. A hipótese do pareamento oscilante

O mecanismo pelo qual o RNAt pode reconhecer mais de um códon para um determinado aminoácido é descrito pela hipótese do pareamento “oscilante”, na qual a base na extremidade 5' do anticódon (a “primeira” base do anticódon) não é tão definida espacialmente como as duas outras bases. O movimento daquela primeira base permite um pareamento de bases não tradicional com a base 3' do códon (a “última” base do códon). Esse movimento é chamado de “oscilação” e permite que um único RNAt reconheça mais de um códon. Exemplos desses pareamentos flexíveis são mostrados na Figura 31.9. O resultado da oscilação é que não são necessárias 61 espécies de RNAt para ler os 61 códons que codificam aminoácidos.

V. ETAPAS PARA A SÍNTESE PROTEICA

O processo de síntese proteica traduz o alfabeto de três letras das sequências nucleotídicas no RNAm para o alfabeto de vinte letras dos aminoácidos que constituem as proteínas. O RNAm é traduzido a partir da sua extremidade 5' para a sua extremidade 3', produzindo uma proteína sintetizada a partir da sua extremidade amino para a sua extremidade carboxila. Os RNAm procarióticos possuem frequentemente várias regiões codificantes, ou seja, são policistronicos (veja a p. 418). Cada região codificante possui seus próprios

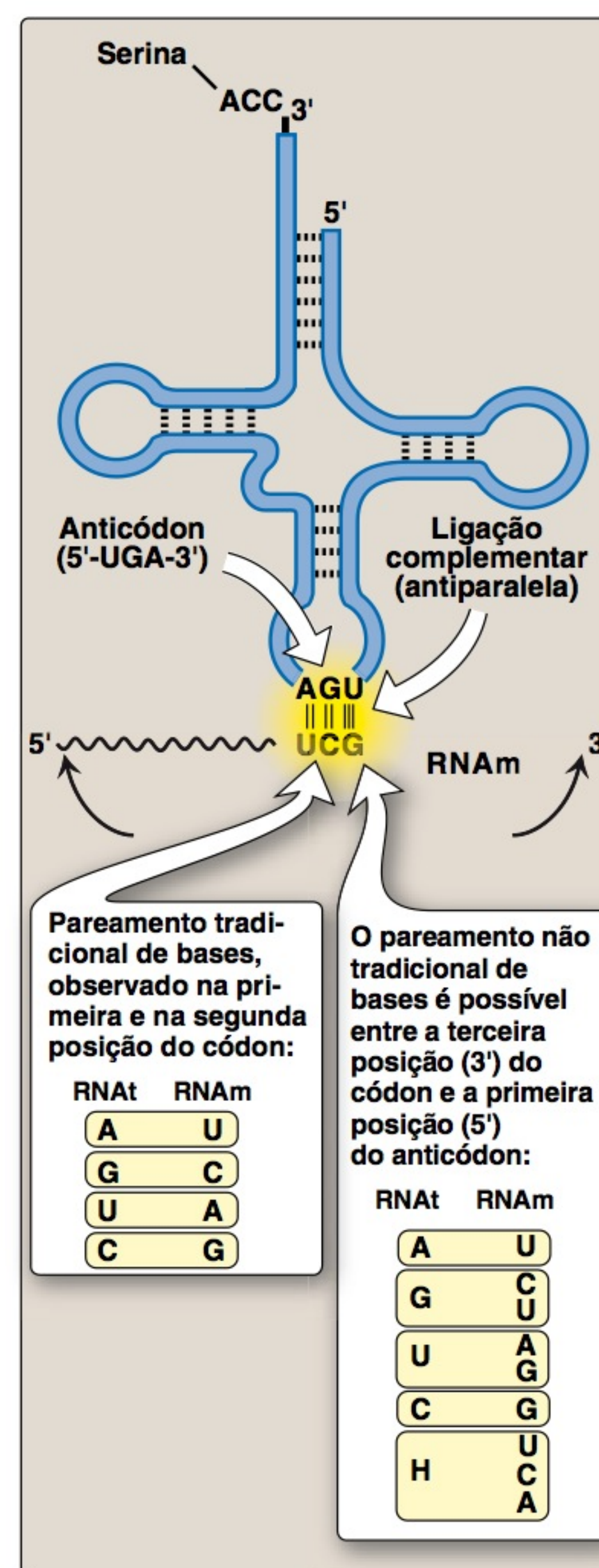


Figura 31.9

Oscilação: pareamento não tradicional de bases entre o nucleotídeo 5' (primeiro nucleotídeo) do anticódon e o nucleotídeo 3' (último nucleotídeo) do códon. H = hipoxantina (o produto da desaminação da adenina).

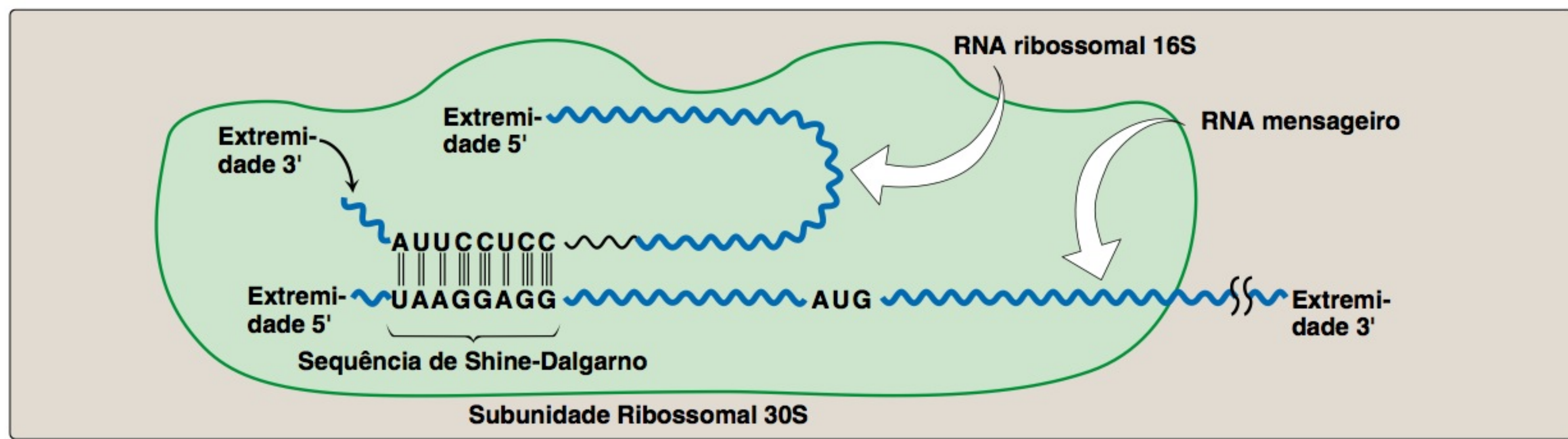


Figura 31.10

Ligação complementar entre a sequência de Shine-Dalgarno do RNAm procariótico e o RNAr 16S.

códons de iniciação e terminação e produz um tipo diferente de polipeptídeo. Por outro lado, cada RNAm eucariótico codifica somente uma cadeia polipeptídica, ou seja, é monocistônico. O processo de tradução é dividido em três etapas separadas: iniciação, alongamento e terminação. A síntese proteica eucariótica assemelha-se à dos procariotos na maioria dos detalhes. Diferenças individuais encontram-se mencionadas no texto.

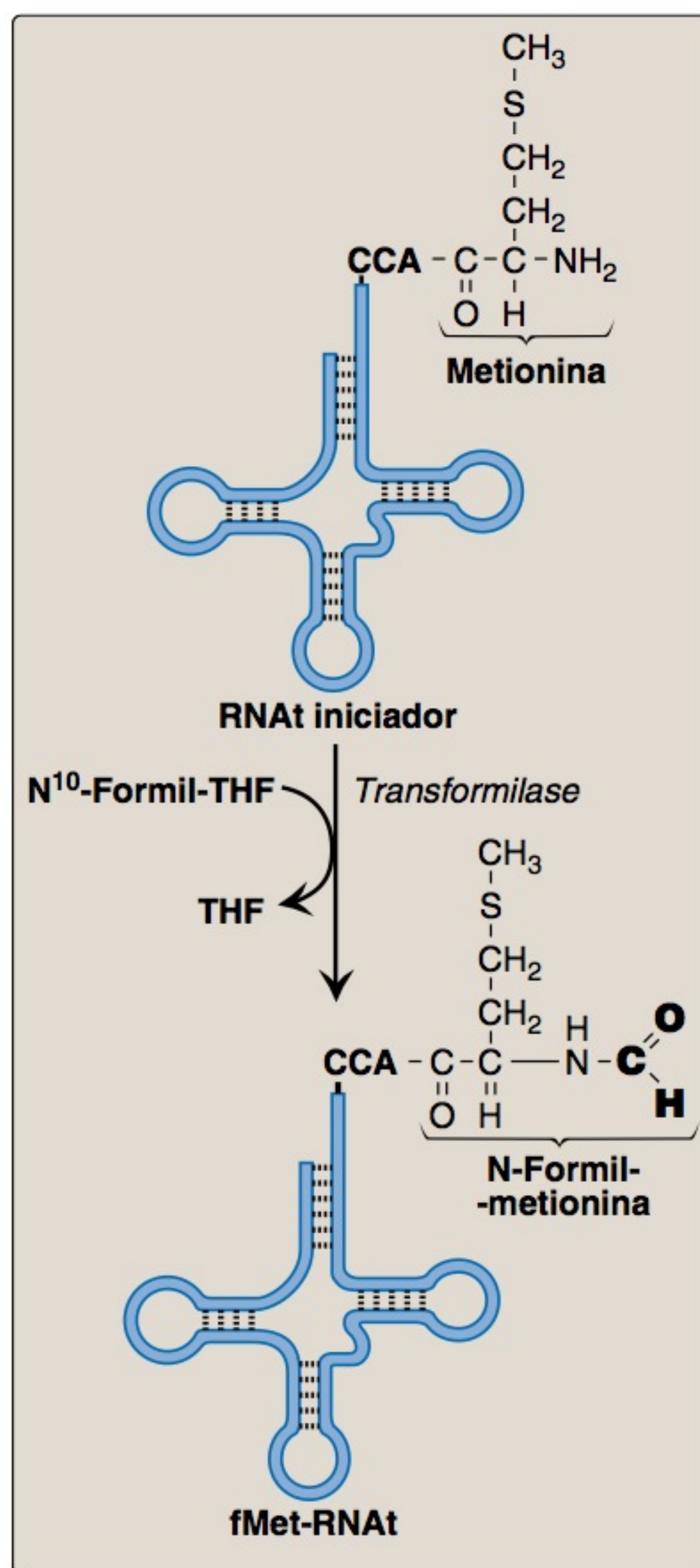


Figura 31.11

Produção do N-formil-metionil-RNAt iniciador (fMet-RNAt).



Uma diferença importante é que, nos procariotos, a tradução e a transcrição estão acopladas: a tradução começa antes que a transcrição termine. O acoplamento é consequência da falta de uma membrana nuclear nos procariotos.

A. Iniciação

A iniciação da síntese proteica envolve a reunião dos componentes do sistema de tradução antes que ocorra a formação da ligação peptídica. Esses componentes incluem as duas subunidades ribossomais, o RNAm a ser traduzido, o aminoacil-RNAt especificado pelo primeiro códon na mensagem, GTP (que fornece energia para o processo) e fatores de iniciação que facilitam a montagem desse complexo de iniciação (veja a Figura 31.13). (Nota: nos procariotos, três fatores de iniciação são conhecidos [IF-1, IF-2 e IF-3], ao passo que nos eucariotos existem mais de dez [designados eIF para indicar a origem eucariótica]. Os eucariotos também necessitam de ATP para a iniciação.) Existem dois mecanismos pelos quais o ribossomo reconhece a sequência nucleotídica (AUG) que inicia a tradução:

1. **Sequência de Shine-Dalgarno.** Na *E. coli*, uma sequência de bases nucleotídicas rica em purinas, conhecida como sequência de Shine-Dalgarno (SD), está localizada de seis a dez bases acima (a montante) do códon de iniciação AUG na molécula de RNAm – ou seja, próxima à extremidade 5'. O RNA ribossomal 16S, componente da subunidade ribossomal 30S, possui uma sequência nucleotídica próxima à extremidade 3', complementar a toda ou parte da sequência de SD. Dessa forma, a extremidade 5' do RNAm e a extremidade 3' do RNA ribossomal 16S podem formar pares de bases complementares, facilitando assim a ligação e o posicionamento da subunidade ribossomal menor (30S) sobre o RNAm com bastante proximidade ao códon de iniciação AUG (Figura 31.10). Mensageiros eucarióticos não possuem sequências

SD. Nos eucariotos, a subunidade ribossomal 40S (auxiliada por membros da família eIF-4 de proteínas) liga-se próximo à estrutura quepe na extremidade 5' do RNAm e move-se ao longo do RNAm até encontrar o códon AUG iniciador. Esse processo de “procura” necessita de ATP.

2. **Códon de iniciação.** O códon AUG iniciador é reconhecido por um RNAt iniciador especial. O reconhecimento é facilitado por IF-2 (ligado a GTP) nos procariotos e por eIF2-GTP (mais eIFs adicionais) nos eucariotos. O RNAt iniciador carregado com o aminoácido entra no sítio P na subunidade menor. (Nota: o RNAt iniciador é o único RNAt reconhecido por eIF-2 e o único RNAt a ir diretamente para o sítio P.) Em bactérias e mitocôndrias, o RNAt iniciador carrega uma metionina N-formilada (Figura 31.11). O grupamento formila é adicionado à metionina após o aminoácido ser ligado ao RNAt iniciador pela enzima *transformilase*, que utiliza N¹⁰-formil-tetra-hidrofolato (veja a p. 267) como doador de carbono. Nos eucariotos, o RNAt iniciador carrega uma metionina não formilada. (Nota: tanto em células procarióticas quanto nas mitocôndrias, essa metionina N-terminal é normalmente removida antes de a tradução ser completada.) A subunidade ribossomal maior então junta-se ao complexo e um ribossomo funcional é formado com o RNAt iniciador carregado presente no sítio P e com o sítio A vazio. O GTP no (e)IF-2 é hidrolizado a GDP. Um fator de permuta de nucleotídeos da guanina facilita a reativação do (e)IF-2-GDP.

B. Alongamento

O alongamento da cadeia polipeptídica envolve a adição de aminoácidos à extremidade carboxila da cadeia em crescimento. Durante o alongamento, o ribossomo move-se da extremidade 5' para a extremidade 3' do RNAm que está sendo traduzido. O encaminhamento do aminoacil-RNAt cujo códon aparece a seguir no molde de RNAm no sítio A ribossomal é facilitado, em *E. coli*, pelos fatores de alongamento EF-Tu-GTP e EF-Ts e necessita da hidrólise de GTP. (Nota: nos eucariotos, fatores de alongamento comparáveis são EF-1 α -GTP e EF-1 $\beta\gamma$. Tanto EF-Ts como EF-1 $\beta\gamma$ funcionam como fatores de permuta de nucleotídeos). A formação das ligações peptídicas é catalisada pela *peptidiltransferase*, uma atividade intrínseca ao RNAr 23S encontrado na subunidade ribossomal maior (50S) (Figura 31.12). (Nota: como esse RNAr catalisa a reação, é chamado de ribozima.) Após a ligação peptídica ter sido formada, o composto que estava ligado ao RNAt no sítio P está agora ligado ao aminoácido do RNAt do sítio A. O ribossomo então avança três nucleotídeos em direção à extremidade 3' do RNAm. Esse processo é conhecido como translocação e, em procariotos, necessita da participação de EF-G-GTP (as células eucarióticas utilizam EF-2-GTP) e da hidrólise de GTP. A translocação induz o movimento do RNAt não carregado do sítio P para o sítio E (antes de ser liberado) e o movimento do peptidil-RNAt do sítio A para o sítio P. O processo é repetido até que um códon de terminação seja encontrado.

C. Terminação

A terminação ocorre quando um dos três códons de terminação move-se para o sítio A. Esses códons são reconhecidos em *E. coli* pelos fatores de liberação: RF-1, que reconhece os códons de terminação UAA e UAG, e RF-2, que reconhece UGA e UAA. A ligação desses fatores resulta na hidrólise da ligação que une o peptídeo ao RNAt no sítio P, induzindo a proteína nascente a ser liberada do ribossomo. Um terceiro

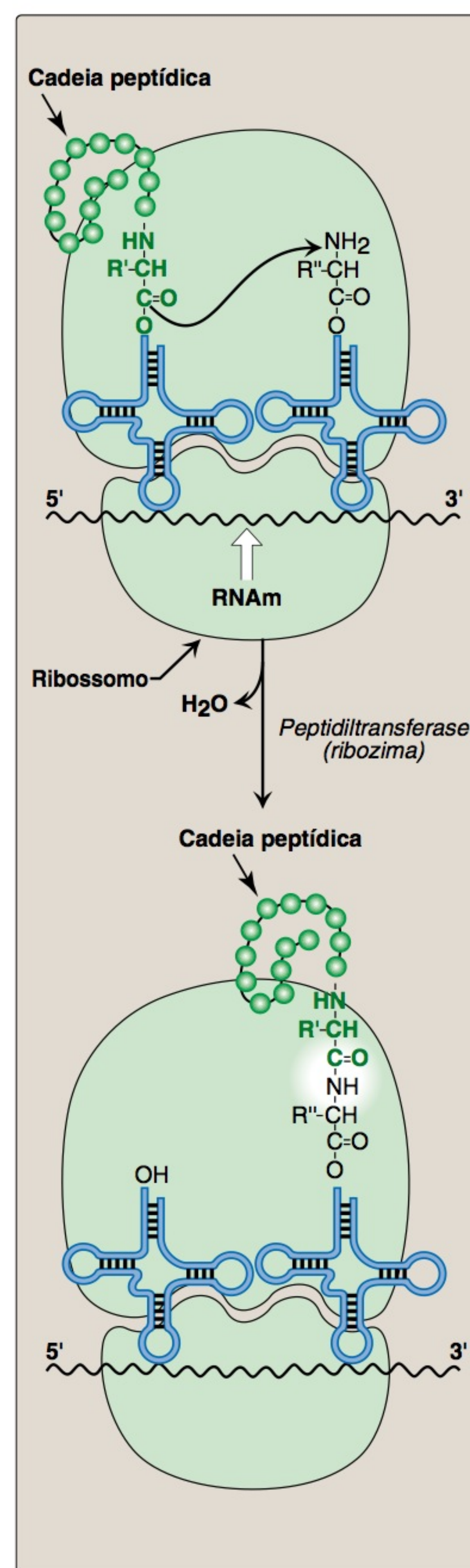
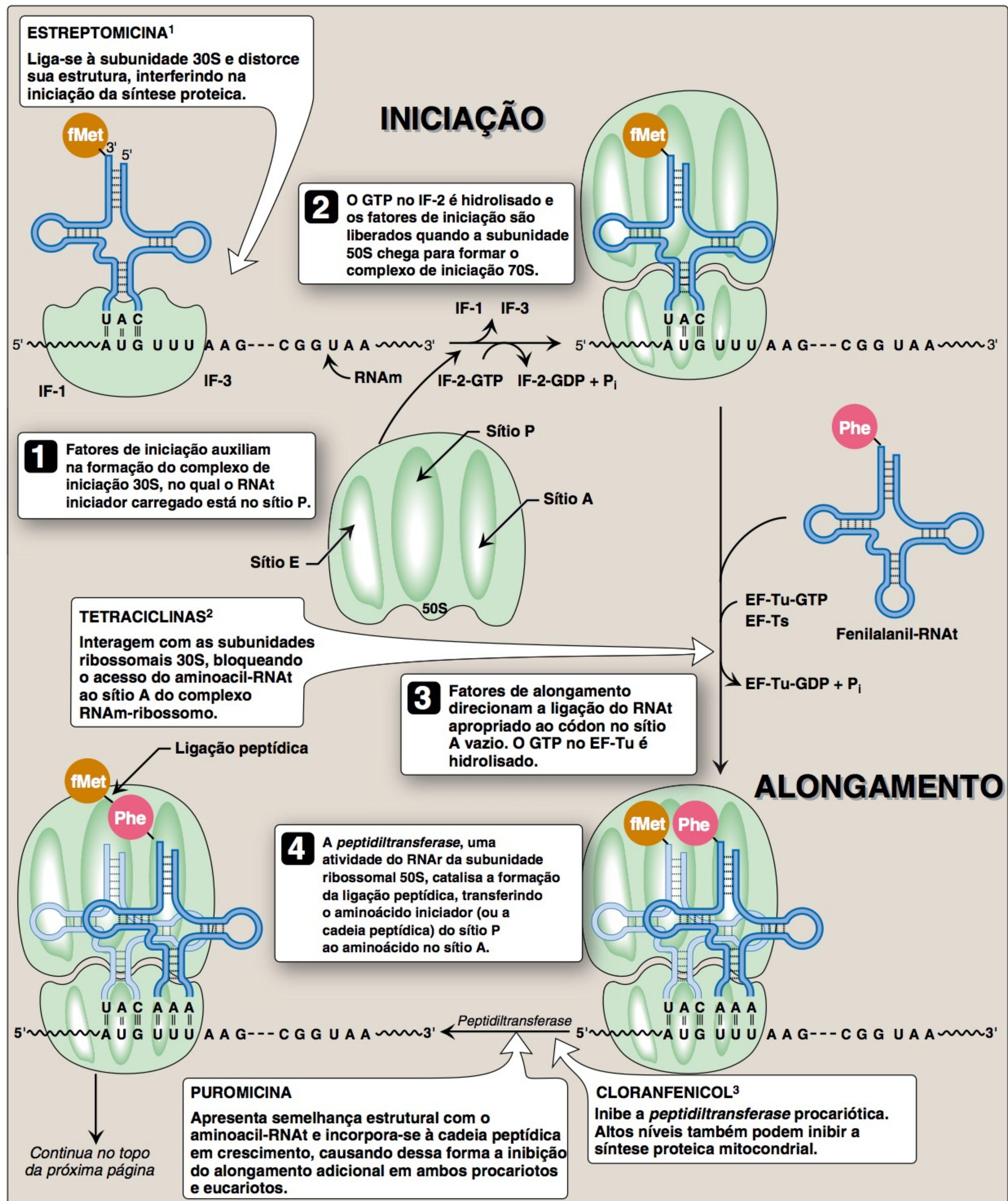


Figura 31.12

Formação de uma ligação peptídica. (Nota: o RNAt carregando a cadeia peptídica está no sítio P do ribossomo e o RNAt carregando o próximo aminoácido a ser incorporado está no sítio A.)



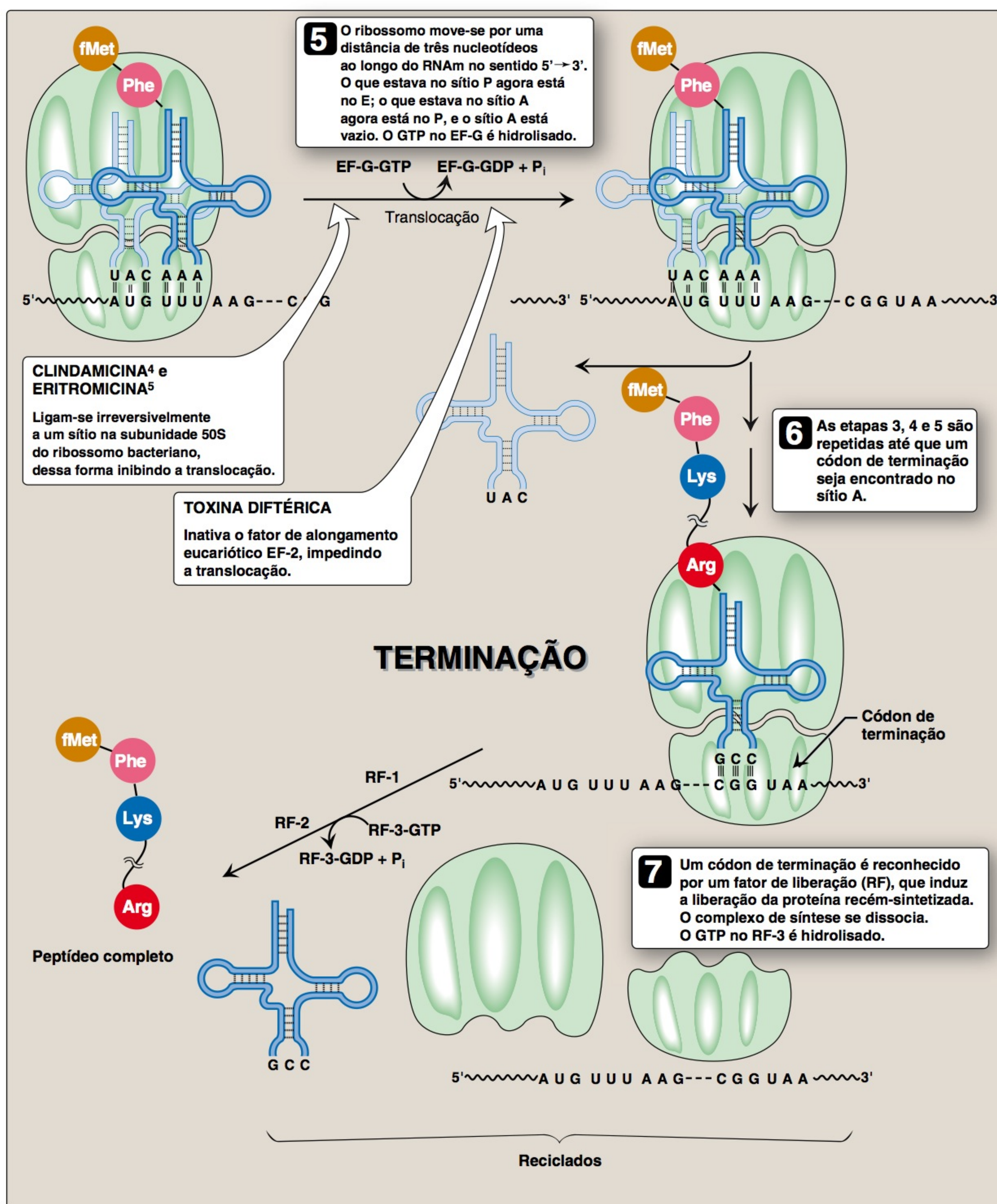
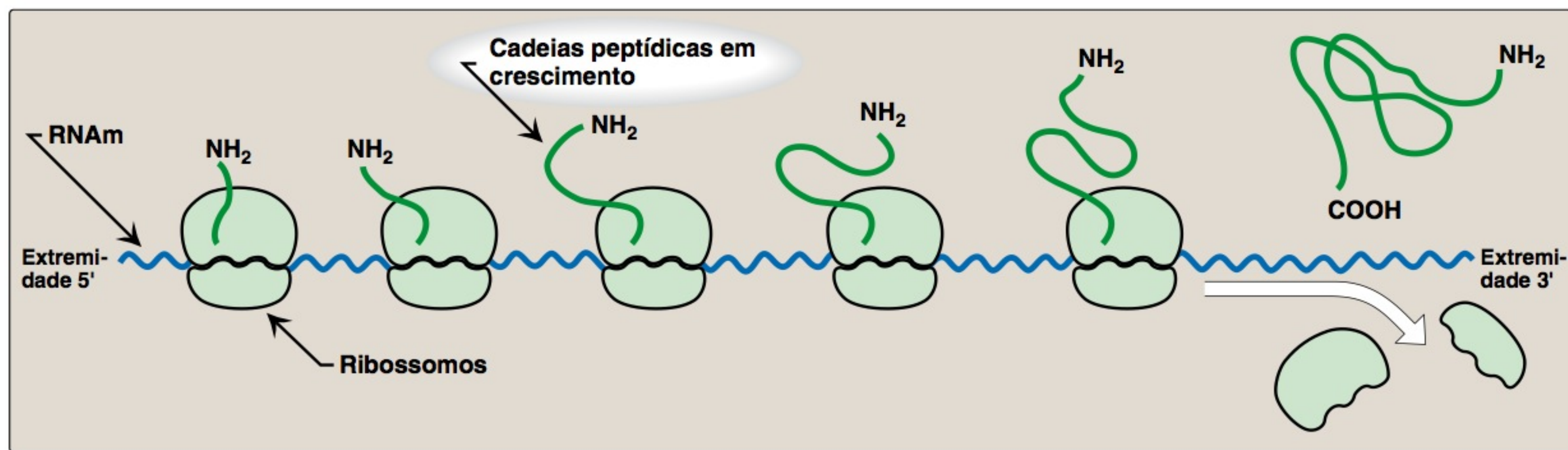


Figura 31.13 (Continuação da página anterior.)



¹⁻⁵Veja o Capítulo 32 em **Farmacologia Ilustrada** para uma discussão mais detalhada acerca dos antibióticos que inibem a síntese proteica em bactérias.

**Figura 31.14**

Um polirribossomo consiste em vários ribossomos traduzindo simultaneamente um RNAm. (Nota: o RNAm eucariótico é tornado circular para a tradução.)

fator de liberação, RF-3-GTP, induz então a liberação de RF-1 e RF-2, à medida que o GTP é hidrolisado (veja a Figura 31.13). (Nota: os eucariotos possuem um único fator de liberação, eRF, que reconhece todos os três códons de terminação. Acredita-se que um segundo fator, eRF-3, funcione como o RF-3 procariótico.) As etapas da síntese proteica procariótica estão resumidas na Figura 31.13. O polipeptídeo recém-sintetizado pode sofrer modificações adicionais, como descrito a seguir, e as subunidades ribossomais, RNAm, RNAt e fatores proteicos podem ser reciclados e usados para sintetizar outro polipeptídeo. Alguns antibióticos inibidores do processo de síntese proteica são ilustrados na Figura 31.13, como a toxina da difteria. Além disso, a ricina (da mamona) é uma toxina muito potente, que exerce os seus efeitos pela remoção de uma adenina do RNA ribossomal 28S, inibindo assim o funcionamento dos ribossomos eucarióticos.

D. Polissomos

A tradução inicia na extremidade 5' do RNAm, com o ribossomo seguindo ao longo da molécula de RNA. Devido ao comprimento da maioria dos RNAm, geralmente mais de um ribossomo de cada vez pode traduzir a mensagem (Figura 31.14). Tal complexo de um RNAm e vários ribossomos é chamado de polissomo ou polirribossomo.

E. Direcionamento proteico

Embora a maior parte da síntese proteica ocorra no citoplasma das células eucarióticas, muitas proteínas destinam-se a desempenhar as suas funções fora da célula ou dentro de organelas celulares específicas. Tais proteínas normalmente contêm sequências de aminoácidos que as direcionam para a sua localização final. Por exemplo, as proteínas destinadas à secreção celular são direcionadas durante sua síntese para ribossomos associados ao RER (veja a p. 436) pela presença de uma sequência sinalizadora hidrofóbica N-terminal. Proteínas direcionadas após a sua síntese (pós-traducionalmente) incluem proteínas nucleares, as quais contêm um pequeno sinal básico de "localização nuclear", e proteínas mitocondriais, as quais contêm uma sequência anfipática em α -hélice de "entrada mitocondrial".

F. Regulação da tradução

A expressão gênica é mais comumente regulada no nível transcricional; entretanto, a taxa de síntese proteica também é algumas vezes regulada. Um importante mecanismo pelo qual isso ocorre nos eucariotos é a modificação covalente de eIF-2 (o eIF-2 fosforilado é inativo). Tanto em eucariotos como em procariotos, a regulação pode ser conseguida também por meio de proteínas que se ligam aos RNAm e inibem o seu uso pelo bloqueio da tradução ou permitem maior uso, protegendo-os da degradação. Para uma discussão mais detalhada a respeito da regulação da tradução, veja a p. 454.

VI. MODIFICAÇÕES CO E PÓS-TRADUCIONAIS DAS CADEIAS POLIPEPTÍDICAS

Muitas cadeias polipeptídicas são modificadas covalentemente, tanto enquanto elas ainda estão ligadas ao ribossomo (modificações cotraducionais) como após a sua síntese ter sido completada (modificações pós-traducionais). Essas modificações podem incluir a remoção de parte da sequência traduzida ou a adição covalente de um ou mais grupos químicos necessários para a atividade proteica. Alguns tipos de modificações pós-traducionais são listados abaixo.

A. Clivagem das extremidades

Muitas proteínas destinadas para secreção da célula são inicialmente produzidas como grandes moléculas precursoras não funcionalmente ativas. Porções da cadeia proteica precisam ser removidas por endoproteases específicas, resultando na liberação da molécula ativa. O sítio celular da reação de clivagem depende da proteína a ser modificada. Algumas proteínas precursoras são clivadas no retículo endoplasmático ou no aparelho de Golgi, outras são clivadas nas vesículas secretoras em desenvolvimento (p. ex., a insulina, veja a Figura 23.4, na p. 309) e ainda outras, como o colágeno (veja a p. 47), são clivadas após a secreção. Zimogênios são precursores inativos de enzimas secretadas (incluindo as proteases necessárias para a digestão). Eles se tornam ativos por meio de clivagem quando atingem os seus sítios de ação apropriados. Por exemplo, o zimogênio pancreático tripsinogênio é ativado produzindo a *tripsina* no intestino delgado (veja a Figura 19.5, p. 249). A síntese de proteases como zimogênios protege a célula de ser digerida pelos seus próprios produtos.

B. Alterações covalentes

Proteínas podem ser ativadas ou inativadas pela ligação covalente de uma variedade de grupos químicos. Exemplos dessas modificações incluem (Figura 31.15):

1. **Fosforilação.** A fosforilação ocorre nos grupos hidroxila de resíduos de serina, treonina ou, menos frequentemente, nos resíduos de tirosina de uma proteína. Essa fosforilação é catalisada por uma família de *proteína-quinasas* e pode ser revertida pela ação das *proteína-fosfatases* celulares. A fosforilação pode aumentar ou diminuir a atividade funcional da proteína. Vários exemplos dessas reações foram previamente discutidos (p. ex., veja o Capítulo 11, p. 125, para a regulação da síntese e da degradação do glicogênio).

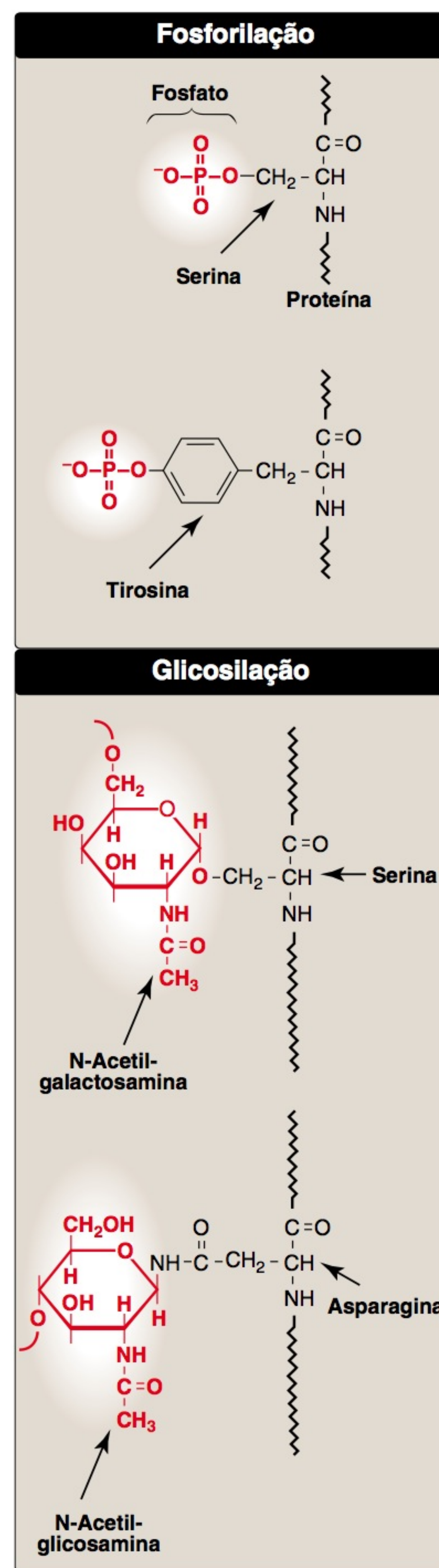
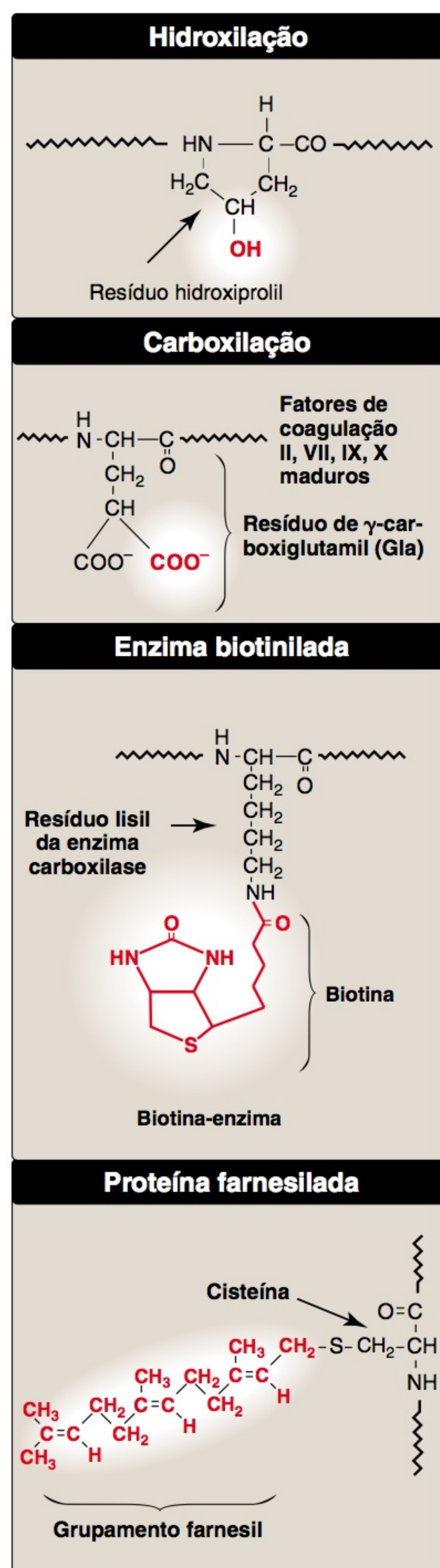


Figura 31.15 (Continua na próxima página)

Modificações covalentes de alguns resíduos de aminoácidos.



2. **Glicosilação.** Muitas das proteínas destinadas a constituírem parte da membrana plasmática ou a serem secretadas da célula possuem cadeias de carboidratos ligados ao nitrogênio amídico da asparagina (N-ligados) ou a grupos hidroxila da serina, da treonina ou da hidroxilisina (O-ligados). A glicosilação com ligação ao N ocorre no retículo endoplasmático e a glicosilação com ligação ao O ocorre no aparelho de Golgi. (O processo de produção de tais glicoproteínas foi discutido na p. 165.) A glicosilação é também usada para direcionar proteínas para a matriz dos lisossomos. As hidrolases ácidas lisossomais são modificadas pela fosforilação de resíduos de manose no carbono 6 (veja a p. 169).

3. **Hidroxilação.** Resíduos de prolina e lisina das cadeias α do colágeno são intensamente hidroxilados no retículo endoplasmático por *hidroxilases* dependentes de vitamina C (veja a p. 47).

4. **Outras modificações covalentes.** Essas podem ser necessárias para a atividade funcional de uma proteína. Por exemplo, grupos carboxila adicionais podem ser inseridos em resíduos de glutamato por carboxilação dependente de vitamina K (veja a p. 389). Os resíduos de γ -carboxiglutamato (Gla) resultantes são essenciais para a atividade de várias das proteínas da coagulação sanguínea. A biotina é ligada covalentemente a grupos ϵ -amino de resíduos de lisina de enzimas dependentes de biotina que catalisam reações de carboxilação, como a *piruvato-carboxilase* (veja a p. 119). A ligação de lipídeos, como os grupamentos farnesila, pode auxiliar na ancoragem de proteínas às membranas. Proteínas histonas podem ser acetiladas de forma reversível (veja a p. 409).

C. Dobramento proteico

As proteínas precisam dobrar-se para assumir o seu estado funcional. O dobramento pode ser espontâneo (como resultado de sua estrutura primária) ou facilitado por proteínas conhecidas como “chaperonas” (veja a p. 20).

D. Degradação proteica

Proteínas que sejam defeituosas, como, por exemplo, que apresentem dobramento errôneo, ou destinadas a uma reciclagem rápida são frequentemente marcadas para destruição por ubiquitinação – a ligação de cadeias de uma pequena proteína altamente conservada, chamada de ubiquitina (veja a p. 246). Proteínas marcadas dessa forma são rapidamente degradadas por um componente celular conhecido como “proteassomo” – um complexo sistema proteolítico macromolecular dependente de ATP localizado no citosol. (Nota: a mutação $\Delta F508$ detectada na FC causa o dobramento incorreto da proteína PRTFC, resultando na sua degradação pelo proteassomo.)

Figura 31.15 (Continuação da página anterior)

Modificações covalentes de alguns resíduos de aminoácidos.

VII. RESUMO DO CAPÍTULO

Os **códons** são compostos por três bases nucleotídicas presentes na linguagem do RNAm de **A, G, C e U**. Eles são sempre escritos de **5'→3'**. Das 64 combinações possíveis de três bases, 61 codificam os 20 aminoácidos comuns e três sinalizam a terminação da síntese proteica (**tradução**). A alteração da sequência nucleotídica em um códon pode causar **mutações silenciosas** (o códon alterado codifica o mesmo aminoácido), **mutações com perda de sentido** (o códon alterado codifica um aminoácido diferente) ou **mutações sem sentido** (o códon alterado é um códon de terminação). Características do código genético incluem **especificidade, universalidade e degeneração**, e ele é **não sobreposto e contínuo**. Os requisitos para a síntese proteica incluem todos os aminoácidos que aparecem na proteína finalizada, pelo menos um tipo específico de RNAt para cada aminoácido, uma **aminoacil-RNAt-sintetase** para cada aminoácido, o RNAm codificante da proteína a ser sintetizada, **ribossomos** totalmente competentes, os **fatores proteicos** necessários para a iniciação, alongamento e terminação da síntese proteica, além de **ATP e GTP** como fontes de energia. O RNAt possui um sítio de ligação para um aminoácido específico na sua extremidade 3' e uma região de anticódon que pode reconhecer o códon especificando o aminoácido que o RNAt carrega. Os **ribossomos** são grandes complexos de proteína e RNAr. Eles consistem em **duas subunidades**. Cada ribossomo possui três sítios de ligação para moléculas de RNAt – os sítios A, P e E, que cobrem três códons vizinhos. O códon do **sítio A** liga-se a um **aminoacil-RNAt recém-chegado**, o códon do **sítio P** é ocupado pelo **peptidil-RNAt** e o **sítio E** é ocupado pelo **RNAt vazio (não carregado)**, que está prestes a deixar o ribossomo. O reconhecimento de um códon do RNAm é feito pelo **anticódon** do RNAt. O anticódon liga-se ao códon seguindo as regras de ligação **complementar e antiparalela**. (As sequências nucleotídicas de códons e anticódons devem SEMPRE ser listadas na ordem 5'→3', a não ser que seja especificada outra forma.) A **hipótese do pareamento “oscilante”** define que a primeira base (5') do anticódon não é tão definida espacialmente como as outras duas bases. O movimento daquela primeira base permite um pareamento não tradicional de bases com a última base (3') do códon, dessa forma permitindo que um único RNAt reconheça mais de um códon para determinado aminoácido. Para o **início da síntese proteica**, os componentes do sistema de tradução são reunidos, e o RNAm associa-se à subunidade ribossomal menor. O processo necessita de **fatores de iniciação**. Nos **procariotos**, uma região rica em purinas do RNAm (a **sequência de Shine-Dalgarno**) pareia com uma sequência complementar no RNAr 16S, resultando no posicionamento da subunidade menor sobre o RNAm, de maneira que a tradução possa começar. O **quepe-5'** no **RNAm eucariótico** é usado para posicionar a subunidade menor no RNAm. O **códon de iniciação** é o **AUG**; a **N-formilmetionina** é o aminoácido inicial nos procariotos, ao passo que a metionina o é nos eucariotos. A cadeia polipeptídica é alongada pela adição de aminoácidos à extremidade carboxila da cadeia em crescimento. O processo necessita de fatores de alongamento. A formação da ligação peptídica é catalisada pela **peptidiltransferase**, atividade intrínseca do RNAr da subunidade maior. Após a formação da ligação peptídica, o ribossomo avança ao longo do RNAm no **sentido 5'→3'** para o próximo códon (translocação). Devido ao tamanho da maioria dos RNAm, mais de um ribossomo de cada vez pode traduzir uma mensagem, formando um **polissomo**. O processo de terminação inicia quando um dos três códons de terminação move-se para o sítio A. Esses códons são reconhecidos por **fatores de liberação**. A proteína recém-sintetizada é liberada do complexo ribossomal, e o ribossomo dissocia-se do RNAm. A iniciação, o alongamento e a terminação têm sua energia advinda da hidrólise do GTP; a iniciação nos eucariotos também necessita de ATP para o esquadriamento (procura do códon de iniciação). Muitos **antibióticos** interferem no processo de síntese proteica. Muitas cadeias polipeptídicas são modificadas covalentemente durante ou após a tradução. Tais modificações incluem a **remoção de aminoácidos**; a **fosforilação**, que pode ativar ou inativar a proteína; a **glicosilação**, que desempenha funções no direcionamento da proteína; e a **hidroxilação**, como aquela observada no caso do colágeno. As proteínas precisam dobrar-se para atingir a sua forma funcional. O dobramento pode ser espontâneo ou auxiliado por **chaperonas**. Proteínas defeituosas, como, por exemplo, aquelas que não apresentam o dobramento apropriado, ou destinadas à reciclagem rápida são marcadas para destruição pela ligação de cadeias de uma pequena proteína altamente conservada chamada **ubiquitina**. As proteínas ubiquitinadas são rapidamente degradadas por um complexo citosólico conhecido como **proteassomo**.

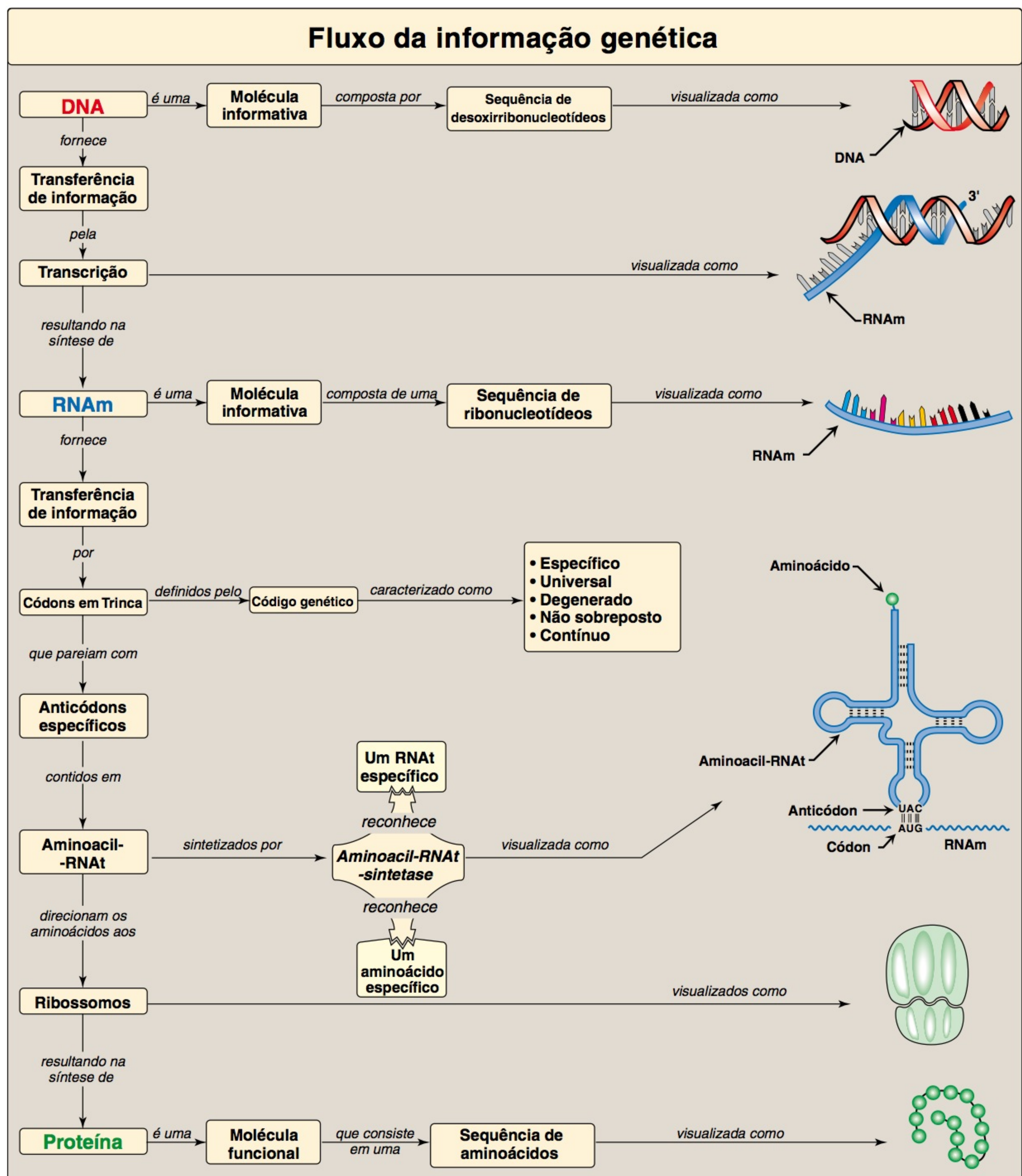


Figura 31.16

Mapa de conceitos-chave para a síntese proteica.

Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 31.1 Descobre-se que um homem anêmico de vinte anos possui uma forma anormal de globina β (Hemoglobina Constant Spring), que apresenta 172 aminoácidos, em vez dos 141 encontrados na proteína normal. Qual das seguintes mutações pontuais é consistente com essa anormalidade?

A. UAA $\rightarrow$ CAA.
 B. UAA $\rightarrow$ UAG.
 C. CGA $\rightarrow$ UGA.
 D. GAU $\rightarrow$ GAC.
 E. GCA $\rightarrow$ GAA.

Resposta correta = A. A mutação do códon de término da globina β , de UAA para CAA, induz o ribossomo a inserir uma glutamina naquele ponto. Assim, ele irá continuar a estender a cadeia proteica até ela atingir o próximo códon de término na mensagem, resultando em uma proteína anormalmente longa. Uma alteração de UAA para UAG simplesmente alteraria um códon de término por outro e não possuiria qualquer efeito na proteína. A substituição de CGA (arginina) por UGA (término) tornaria a proteína muito curta. Tanto GAU como GAC codificam aspartato e não causariam alteração na proteína. Alterar GCA (alanina) para GAA (glutamato) não altera o tamanho do produto proteico.

- 31.2 Uma companhia farmacêutica está estudando um novo antibiótico que inibe a síntese proteica bacteriana. Quando esse antibiótico é adicionado a um sistema de síntese proteica *in vitro* que está traduzindo a sequência de RNAm AUGUUUUUUUAG, o único produto formado é o dipeptídeo fMet-Phe. Qual etapa da síntese proteica é mais provavelmente inibida pelo antibiótico?

A. Iniciação.
 B. Ligação do RNAt carregado ao sítio ribossomal A.
 C. Atividade de peptidiltransferase.
 D. Translocação ribossomal.
 E. Terminação.

Resposta correta = D. Em decorrência da produção de fMet-Phe, os ribossomos são capazes de completar a iniciação, ligar o RNAt-Phe ao sítio A e usar a atividade de peptidiltransferase para formar a primeira ligação peptídica. Como o ribossomo não parece ser capaz de continuar a síntese, o movimento ribossomal (translocação) é mais provavelmente a etapa inibida. O ribossomo é, desta forma, imobilizado antes que alcance o códon de término dessa mensagem.

- 31.3 Uma molécula de RNAt que deveria carregar cisteína (RNAt^{cys}) foi erroneamente carregada, de maneira que ela na verdade carrega alanina (RNAt^{cys}-Ala). Assumindo que nenhuma correção ocorra, qual será o destino desse resíduo de alanina durante a síntese proteica?

A. Será incorporado à proteína em resposta a um códon da alanina.
 B. Será incorporado à proteína em resposta a um códon de cisteína.
 C. Permanecerá ligado ao RNAt, pois não pode ser usado para a síntese proteica.
 D. Será incorporado ao acaso em qualquer códon.
 E. Será convertido quimicamente em cisteína por enzimas celulares.

Resposta correta = B. Assim que um aminoácido estabelece ligação com uma molécula de RNAt, somente o anticódon daquele RNAt é capaz de determinar a especificidade da incorporação. A alanina carregada incorretamente, dessa forma, será incorporada na proteína na posição determinada pelo códon da cisteína.

- 31.4 Em um paciente com fibrose cística causada pela mutação $\Delta F508$, a proteína mutante do regulador da condutância transmembrana da fibrose cística (PRTFC) dobra-se de forma incorreta. As células do paciente modificam essa proteína anormal ligando a ela moléculas de ubiquitina. Qual será o destino dessa proteína PRTFC modificada?

A. Ela desenvolve a sua função normal, uma vez que a ubiquitina corrige em grande parte o efeito da mutação.
 B. Ela é secretada da célula.
 C. Ela é colocada em vesículas de estocagem.
 D. Ela é degradada pelo proteassomo.
 E. Ela é reparada por enzimas celulares.

Resposta correta = D. A ubiquitinação normalmente marca proteínas velhas, danificadas ou erroneamente dobradas para destruição pelo proteassomo. Não existe qualquer mecanismo celular conhecido para o reparo de proteínas danificadas.

- 31.5 Muitos antimicrobianos inibem a tradução de proteínas. Qual dos seguintes antimicrobianos está corretamente pareado com o seu mecanismo de ação?

A. As tetraciclinas inibem a peptidiltransferase.
 B. A toxina da difteria liga-se à subunidade ribossomal 30S.
 C. A puomicina inativa EF-2.
 D. A clindamicina liga-se à subunidade ribossomal 30S.
 E. A eritromicina liga-se à subunidade ribossomal 50S.

Resposta correta = E. Tanto a clindamicina como a eritromicina ligam-se à subunidade ribossomal 50S. As tetraciclinas inibem a subunidade ribossomal 30S (o cloranfenicol inibe a peptidiltransferase). A toxina da difteria liga-se ao EF-2, inativando-o por meio da ribosilação do ADP. A puomicina possui estrutura similar à do aminoacil-RNAt; é incorporada na cadeia em crescimento e inibe o crescimento adicional da cadeia peptídica.

31.6 A tradução de um polirribonucleotídeo sintético contendo a sequência repetida CAA em um sistema acelular de síntese de proteínas produz três homopolipeptídeos: poliglutamina, poliasparagina e politreonina. Se os códons para a glutamina e para a asparagina são CAA e AAC, respectivamente, qual das trincas seguintes é o códon para a treonina?

- A. AAC.
- B. CAA.
- C. CAC.
- D. CCA.
- E. ACA.

Resposta correta = E. A sequência polinucleotídica sintética de CAACAACAACA... poderia ser lida pelo sistema de síntese proteica *in vitro* iniciando no primeiro C, no primeiro A ou no segundo A. No primeiro caso, a primeira trinca codificante seria CAA, que codifica glutamina; no segundo caso, a primeira trinca codificante seria AAC, que codifica asparagina; no último caso, a primeira trinca codificante seria ACA, que codifica treonina.

31.7 Qual das seguintes alternativas é necessária para a síntese de proteínas de ambos procariotos e eucariotos?

- A. Ligação da subunidade ribossomal menor à sequência Shine-Dalgarno.
- B. fMet~RNAt.
- C. Movimento do RNAm do núcleo para o citoplasma.
- D. Reconhecimento do quepe-5' pelos fatores de iniciação.
- E. Translocação do peptidil-RNAt do sítio A para o sítio P.

Resposta correta = E. Nos procariotos e eucariotos, a tradução continuada (alongamento) necessita do movimento do peptidil-RNAt do sítio A para o sítio P, a fim de permitir que o próximo aminoacil-RNAt entre no sítio A. Somente os procariotos possuem a sequência de Shine-Dalgarno e utilizam a fMet, ao passo que somente os eucariotos possuem núcleo e processam co e pós-transcricionalmente o seu RNAm.

31.8 Por que o código genético é descrito como degenerado e não ambíguo?

Um dado aminoácido pode ser codificado por mais de um códon (código degenerado), mas um determinado códon codifica somente um único aminoácido (código não ambíguo).

31.9 A deficiência de α 1-antitripsina (A1AT) pode resultar em enfisema, uma patologia de pulmão, devido à falta de controle da ação da elastase, uma serina-protease. A deficiência de A1AT nos pulmões é a consequência de sua retenção (em vez de secreção) no fígado, o seu sítio de síntese. Proteínas como A1AT, destinadas a serem secretadas, são melhor caracterizadas por qual das seguintes afirmações:

- A. A sua síntese é iniciada no retículo endoplasmático liso.
- B. Elas contêm um sinal de destinação de manose 6-fosfato.
- C. Elas sempre contêm metionina como aminoácido N-terminal.
- D. Elas são produzidas a partir de produtos de tradução que possuem uma sequência sinalizadora hidrofóbica N-terminal.
- E. Elas não contêm ligações O-glicosídicas, pois a sua síntese não envolve o aparelho de Golgi.

Resposta correta = D. A síntese de proteínas secretadas é iniciada nos ribossomos livres (citoplasmáticos). Assim que a sequência sinalizadora hidrofóbica N-terminal emerge do ribossomo, ela é ligada a uma partícula de reconhecimento de sinal, levada até o retículo endoplasmático rugoso (RER), direcionada ao lúmen e removida com o andamento da tradução. As proteínas movem-se através do RER e do Golgi e sofrem processamentos, como a N-glicosilação (RER) e O-glicosilação (Golgi). No Golgi, elas são empacotadas em vesículas secretoras e liberadas da célula. O retículo endoplasmático liso está associado com a síntese de lipídeos, não proteínas, e não apresenta ribossomos ligados a ele. A fosforilação no carbono 6 dos resíduos de manose terminais nas glicoproteínas direciona estas proteínas (hidrolases ácidas) para os lisossomos. A metionina N-terminal é removida da maior parte das proteínas durante o processamento.

Regulação da Expressão Gênica

32

I. VISÃO GERAL

A expressão gênica refere-se ao processo de múltiplos passos que por fim resulta em um produto gênico funcional, seja ácido ribonucleico (RNA) ou proteína. O primeiro passo na expressão gênica – o uso de ácido desoxirribonucleico (DNA) para a síntese de RNA (transcrição) – é o principal sítio de regulação, tanto em procariotos quanto em eucariotos. Nos eucariotos, no entanto, a expressão gênica também envolve muitos processos pós-transcricionais e pós-traducionais, assim como ações que influenciam o acesso a determinadas regiões do DNA. Cada um desses passos pode ser regulado a fim de fornecer controle adicional sobre os tipos e quantidades dos produtos funcionais.

Nem todos os genes são regulados. Por exemplo, os genes descritos como constitutivos codificam os produtos necessários para as funções celulares básicas, de modo que são expressos continuamente. Os genes regulados, no entanto, são expressos apenas em certas condições. Podem ser expressos em todas as células ou apenas em um subconjunto delas, por exemplo, nos hepatócitos. A capacidade de regular a expressão gênica (ou seja, de determinar *se*, *quantos* e *quando* determinados produtos gênicos serão sintetizados) fornece à célula controle sobre sua estrutura e função. É a base para a diferenciação celular, a morfogênese e a capacidade de adaptação de qualquer organismo. O controle da expressão gênica é melhor compreendido em procariotos, mas muitos temas repetem-se nos eucariotos. A Figura 32.1 lista algumas estratégias comuns empregadas na regulação gênica.

II. SEQUÊNCIAS E MOLÉCULAS REGULADORAS

A regulação da transcrição – o passo inicial em toda a expressão gênica – é controlada por sequências reguladoras no DNA, geralmente inseridas em regiões não codificantes do genoma. A interação entre esses segmentos de DNA e as moléculas reguladoras, como fatores de transcrição, pode acionar ou reprimir a maquinaria transcricional, influenciando os tipos e as quantidades de produtos. Essas sequências de DNA que flanqueiam um gene são denominadas ações cis, pois influenciam a expressão de genes localizados apenas no

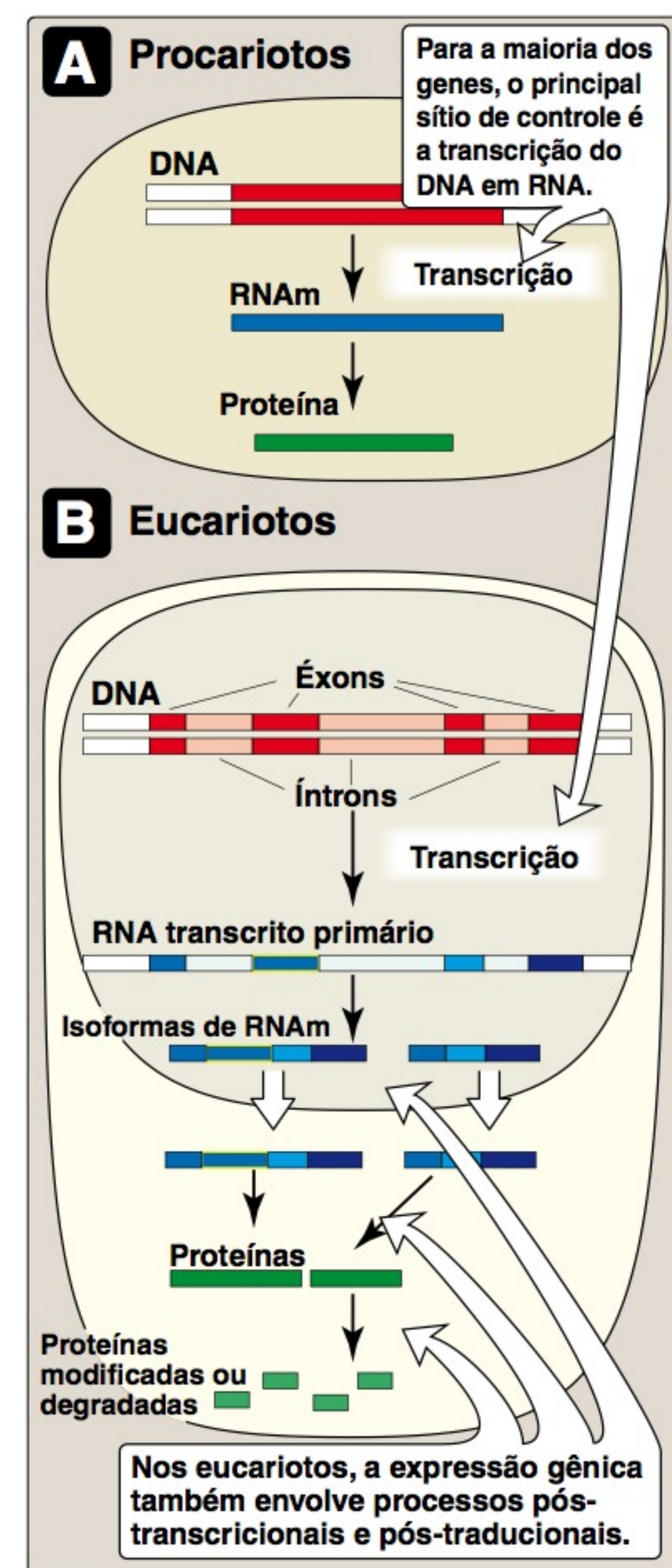
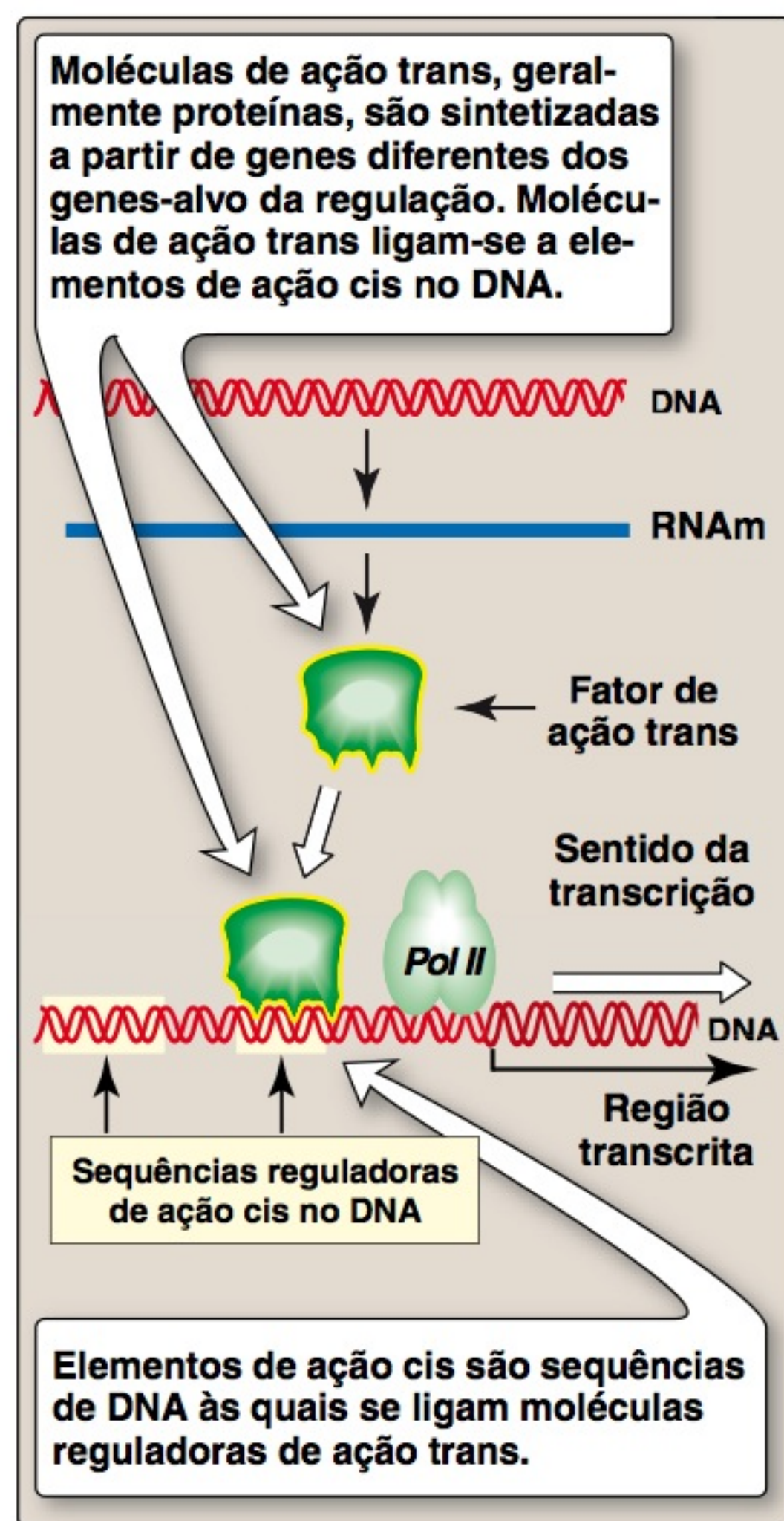
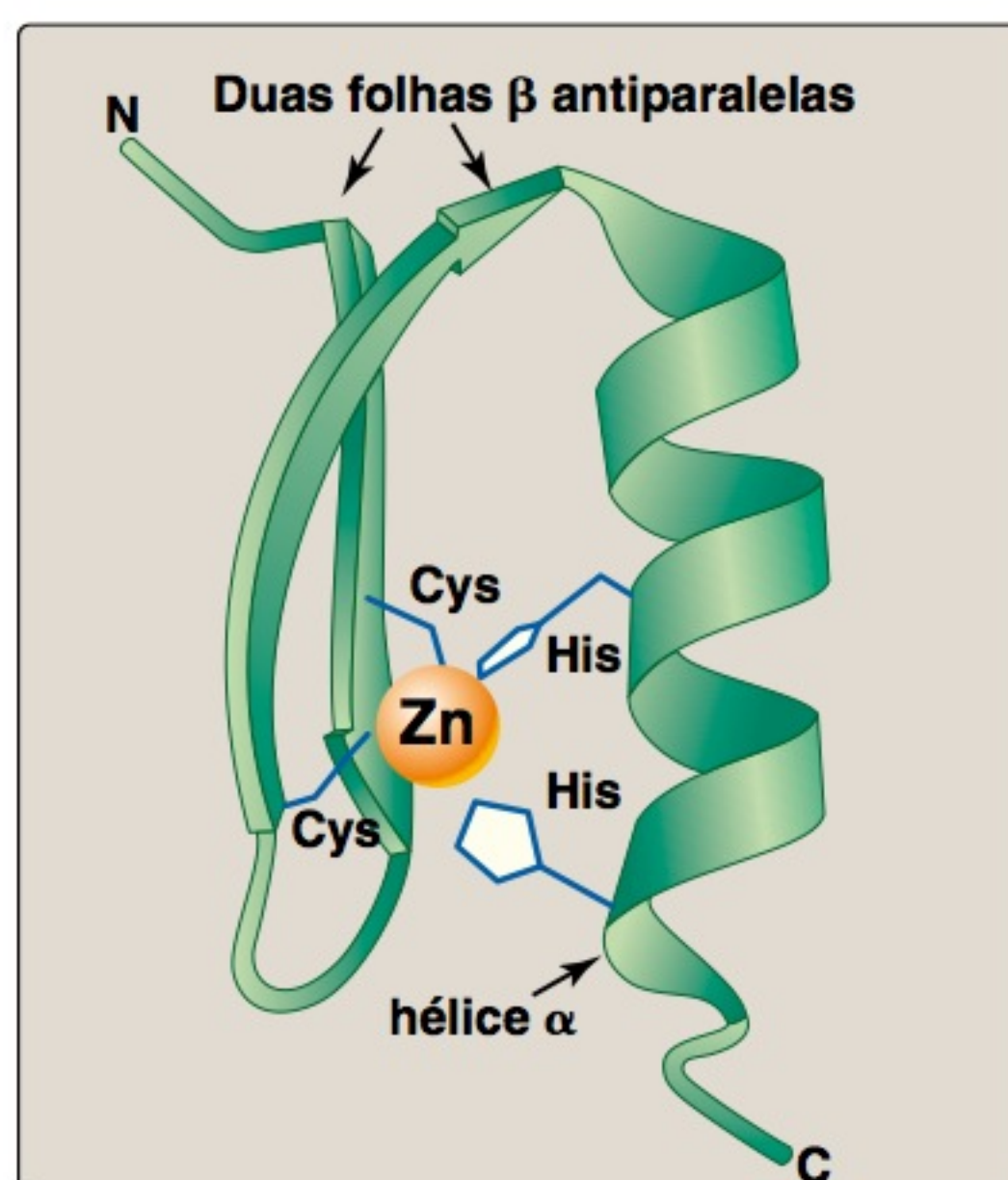


Figura 32.1

Controle da expressão gênica.

**Figura 32.2**

Elementos de ação cis e moléculas de ação trans. Pol II = RNA-polimerase II.

**Figura 32.3**

Dedo de zinco é um motivo comum em proteínas que se ligam ao DNA.

mesmo cromossomo (veja a p. 423). Um fator de ação trans é a própria molécula reguladora, que pode difundir através da célula, desde o sítio de síntese até o sítio de ligação ao DNA (Figura 32.2). Por exemplo, o fator proteico de transcrição (molécula de ação trans) que regula um gene no cromossomo 6 pode, ele próprio, ter sido transcrito a partir de um gene no cromossomo 11. A ligação de proteínas ao DNA ocorre via motivos estruturais da proteína, como dedos de zinco (Figura 32.3), zíper de leucina ou hélice-torção-hélice. (Nota: alguns fatores de ação trans podem afetar negativamente a expressão gênica.)

III. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM PROCARIOTOS

Em procariotos, como na *Escherichia coli* (*E. coli*), a regulação da expressão gênica ocorre principalmente no nível transcricional. Em geral, é mediada pela ligação de proteínas de ação trans a elementos reguladores de ação cis na molécula única de DNA (cromossomo). (Nota: a regulação do primeiro passo da expressão de um gene é uma estratégia eficiente, pois a energia não é desperdiçada sintetizando produtos gênicos desnecessários.) O controle transcricional em procariotos pode envolver o início ou o encerramento prematuro da transcrição.

A. Transcrição de RNAm a partir de óperons bacterianos

Nas bactérias, os genes estruturais que codificam as proteínas envolvidas em determinada via metabólica encontram-se com frequência agrupados sequencialmente no cromossomo, junto a elementos reguladores de ação cis, que determinam a transcrição desses genes. A transcrição produz um único RNA mensageiro (RNAm) policistrônico (veja a p. 418). Dessa forma, os genes são controlados coordenadamente, ou seja, acionados ou “desligados” como uma unidade. Esse pacote inteiro é referido como um óperon.

B. Papel dos operadores na transcrição procariótica

Os óperons procarióticos contêm um operador – um segmento de DNA que regula a atividade dos genes estruturais do óperon. Se o operador não estiver ligado a uma molécula repressora, a RNA-polimerase ultrapassa o operador, alcança os genes codificadores de proteínas e os transcreve no RNAm. Se uma molécula repressora estiver ligada ao operador, a polimerase é bloqueada e não produz RNAm. Enquanto o repressor estiver ligado ao operador, as proteínas não serão sintetizadas. Contudo, quando uma molécula indutora está presente, ela liga-se ao repressor e altera a conformação do repressor de forma que ele não se ligue mais ao operador. Quando isso ocorre, a RNA-polimerase pode prosseguir com a transcrição. Um dos exemplos melhor compreendidos é o óperon da lactose de *E. coli*, que ilustra as regulações positiva e negativa (Figura 33.4).

C. O óperon da lactose

O óperon da lactose (lac-óperon) codifica três proteínas envolvidas no catabolismo do dissacarídeo lactose: o gene *lacZ* codifica a β-galactosidase, que hidrolisa lactose em galactose e glicose; o gene *lacY* codifica uma permease, que facilita a entrada da galactose na célula; e o gene *lacA* codifica a tiogalactosídeo-transacetilase, cuja função fisiológica exata é desconhecida. Essas proteínas são todas produzidas quando a lactose, e não a glicose, está disponível para a célula. (Nota: entre todos açúcares as bactérias preferem a glicose como combustível.) A porção reguladora do óperon localiza-se anteriormente (a montante) aos três genes estruturais e consiste na região promotora (P), onde se liga a RNA-polimerase, e dois sítios adicionais, o sítio operador (O) e o CAP, onde se ligam proteínas

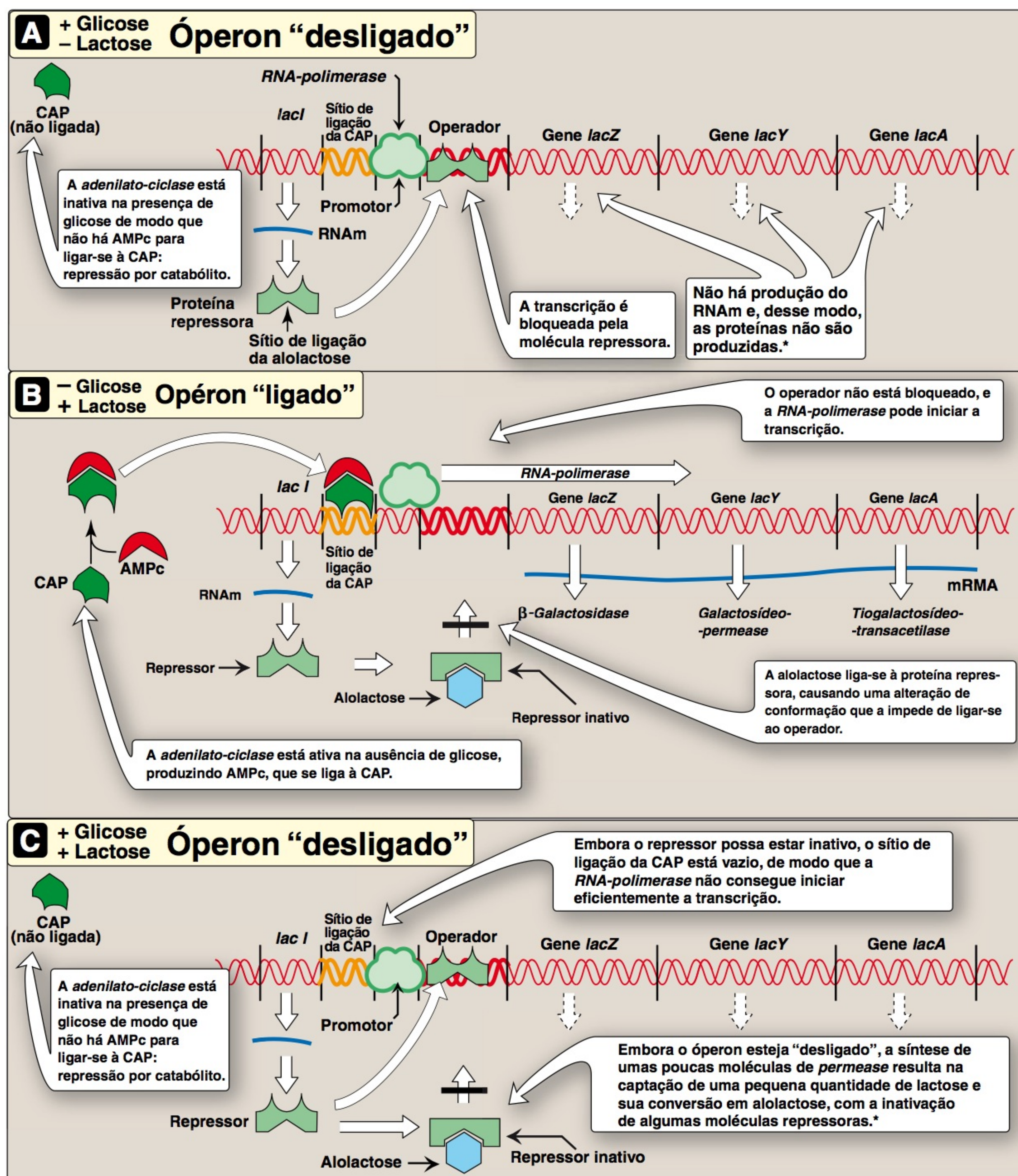
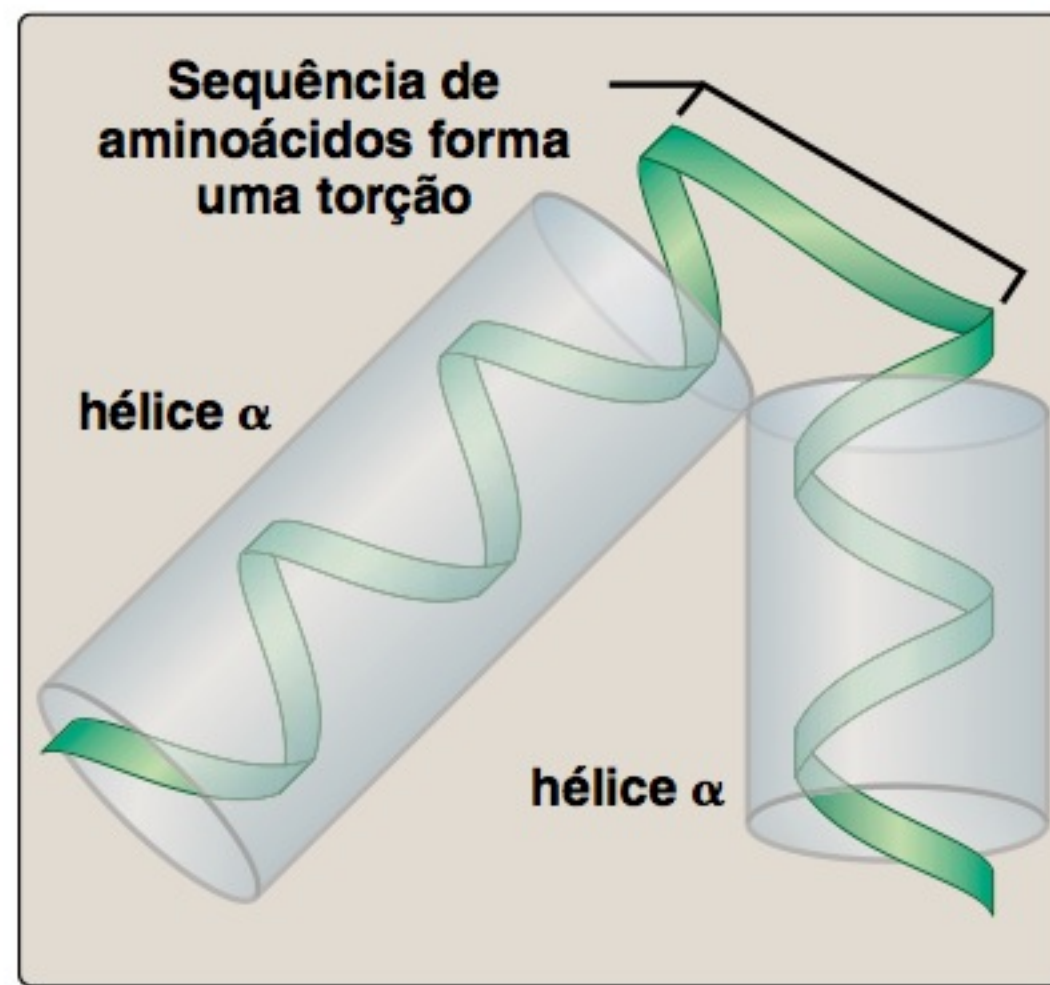


Figura 32.4

O opéron da lactose da *E. coli*. *(Nota: mesmo quando o óperon é desligado por repressão por catabólito, o repressor dissocia-se transitoriamente do operador em uma taxa reduzida, permitindo um nível muito baixo de expressão. A síntese de umas poucas moléculas de *permease* [e de β -galactosidase] permite que o organismo responda rapidamente caso a glicose não estiver mais disponível.)

**Figura 32.5**

Motivo hélice-torção-hélice.

reguladoras. Os genes *lacZ*, *lacY* e *lacA* são expressos somente quando o sítio O está vazio e o sítio CAP está ligado por um complexo formado por monofosfato de adenosina cíclico (AMPc, veja a p. 94) e a proteína ativadora de genes de catabolismo, ou CAP (de *catabolite gene activator protein*, algumas vezes chamada de proteína reguladora por AMPc ou CRP, de cAMP regulatory protein; veja a Figura 32.4). Um gene regulador adicional, o gene *lacI*, codifica a proteína repressora (fator de ação trans) que se liga no sítio operador. (Nota: o gene *lacI* tem seu próprio promotor.)

1. **Quando a glicose é o único açúcar disponível.** Nesse caso, o lac-óperon é reprimido (“desligado”). A repressão é mediada pela ligação da proteína repressora, via um motivo hélice-torção-hélice (Figura 32.5), ao sítio operador a jusante (posteriormente) à região promotora (veja a Figura 32.4A). A ligação do repressor interfere no progresso da *RNA-polimerase* e bloqueia a transcrição dos genes estruturais. Este é um exemplo de regulação negativa.
2. **Quando somente a lactose está disponível.** Nesse caso, o lac-óperon é induzido (expresso ou acionado). Uma pequena quantidade de lactose é convertida em um isômero, a alolactose. Esse composto é um indutor que se liga à proteína repressora, alterando a conformação desta de forma que ela não seja mais capaz de se ligar ao operador. Como não há disponibilidade de glicose, a *adenilato-ciclase* está ativa, e quantidades suficientes de AMPc são produzidas e se ligam à proteína CAP. Esse complexo (AMPc-CAP) de ação trans liga-se ao sítio de ligação da CAP, permitindo que a *RNA-polimerase* inicie efetivamente a transcrição no sítio do promotor (veja a Figura 32.4B). Este é um exemplo de regulação positiva. O transcrito é uma única molécula de RNAm policistrônica, codificando todas as três enzimas, com os três conjuntos de códons de início e término. A tradução do RNAm produz as três proteínas que permitem o uso da lactose na produção de energia pela célula. (Nota: em contraste com os genes induzíveis *lacZ*, *lacY* e *lacA*, cuja expressão é regulada, o gene *lacI* é constitutivo. Seu produto gênico, a proteína repressora, está ativo, a menos que o indutor esteja presente.)
3. **Quando tanto a glicose como a lactose estão presentes.** Neste caso, a transcrição do lac-óperon é mínima mesmo se a lactose estiver presente em altas concentrações. Uma vez que a *adenilato-ciclase* está desativada na presença de glicose – processo conhecido como repressão por catabólito –, o complexo AMPc-CAP não pode se formar, e o sítio de ligação da CAP permanece vazio. A *RNA-polimerase* é, dessa forma, incapaz de iniciar efetivamente a transcrição, mesmo que o repressor não esteja ligado na região operadora. Dessa forma, os três genes estruturais não são expressos (Figura 32.4C).

D. O óperon do triptofano

O óperon do triptofano (Trp) codifica cinco proteínas necessárias para a síntese do aminoácido triptofano. Assim como no caso do lac-óperon, o óperon do triptofano está sujeito a controles positivo e negativo. O controle negativo inclui a ligação do próprio triptofano à proteína repressora, o que facilita a ligação do repressor ao operador. Entretanto, a repressão pelo Trp nem sempre é completa e, assim, ao contrário do que ocorre com o lac-óperon, o óperon do triptofano é regulado também por um processo conhecido como atenuação. Com a atenuação, a transcrição é iniciada, mas é encerrada bem antes de se completar (Figura 32.6). Se há uma boa quantidade de Trp, aquela transcrição iniciada, que escapou ao controle da repressão pelo Trp, é atenuada (encerrada) pela formação, na extremidade 5' do RNAm, de uma estrutura em grampo, semelhante

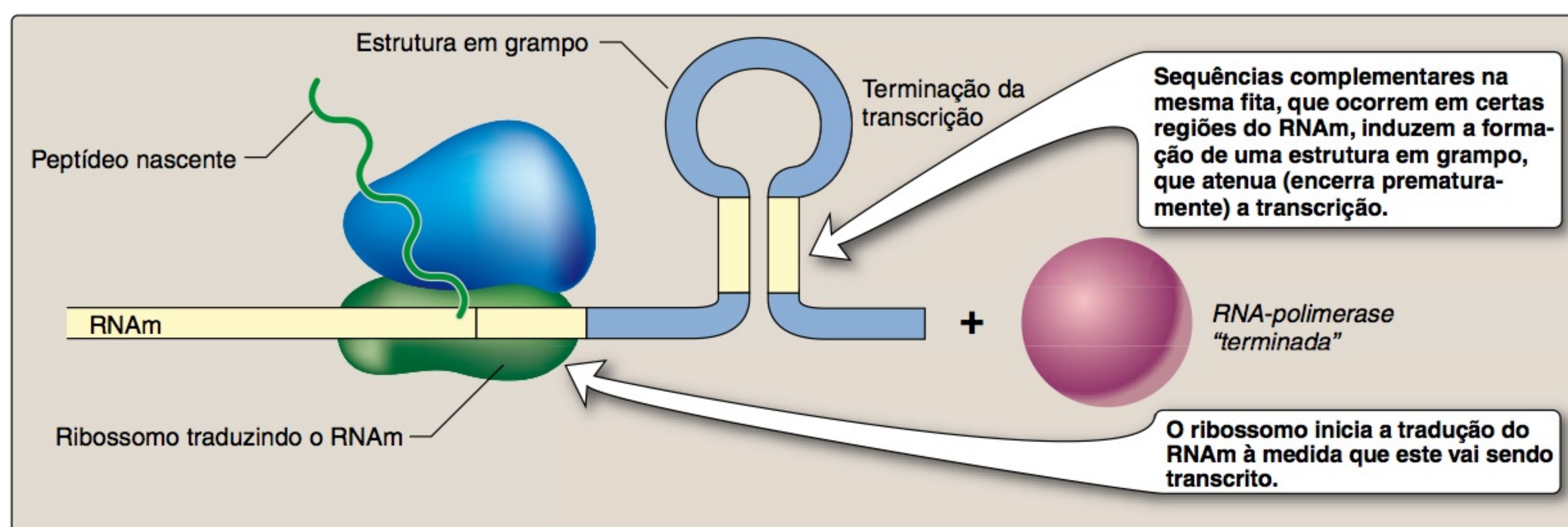


Figura 32.6

Atenuação da transcrição do Trp-óperon quando há boas quantidades de triptofano disponível.

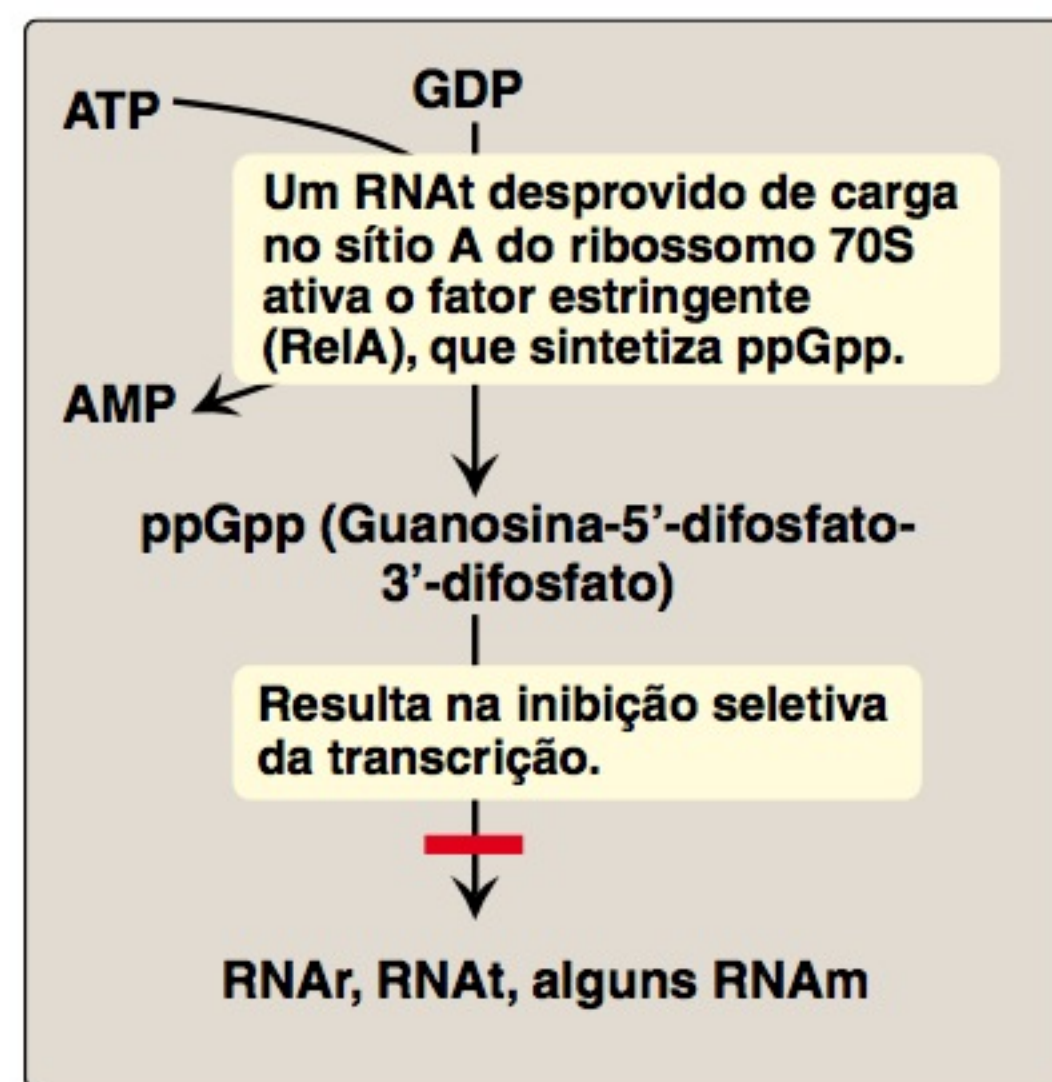
àquela que vimos na terminação independente de ρ (veja a p. 421). Em procariotos, a transcrição e a tradução são processos acoplados (veja a p. 438), de modo que a atenuação também resulta na formação de um produto peptídico truncado e não funcional, que é rapidamente degradado. (Nota: se existe pouco Trp, o óperon é expresso. A extremidade 5' do RNAm contém dois códons adjacentes para o Trp. Devido à falta de Trp, os ribossomos permanecem ligados a esses códons, cobrindo regiões do RNAm necessárias para a formação do grampo de atenuação. Isso impede a atenuação e permite que a transcrição continue.)

A atenuação transcricional pode ocorrer em procariotos, pois a tradução de um RNAm começa antes de sua síntese completar-se. Nos eucariotos isso não ocorre, pois esses organismos apresentam o núcleo envolvido por membrana, e a transcrição e a tradução são processos espacial e temporalmente separados.

E. Coordenação da transcrição e da tradução nos procariotos

Embora a regulação transcricional da produção de RNAm seja o principal controle da expressão gênica em bactérias, a regulação no nível do RNA ribossomal (RNAr) e da síntese proteica também ocorre e desempenha importante papel na capacidade do microrganismo em adaptar-se a estresse ambiental.

- 1. Resposta estrigente.** A *E. coli* possui sete óperons que sintetizam o RNA ribossomal (RNAr) necessário para a produção dos ribossomos; cada um desses óperons é regulado em resposta a mudanças nas condições ambientais. A regulação em resposta à falta de aminoácidos é conhecida como resposta estrigente. A ligação de um RNA transportador (RNAt) desprovido de carga (sem aminoácido) ao sítio A de um ribossomo (veja a p. 436) dispara uma série de eventos que levam à produção de guanosina polifosforilada (ppGpp). A síntese desse derivado do difosfato de guanosina (GDP), fosforilado de forma incomum, é catalisada pelo *fator estrigente* (*RelA*), enzima associada fisicamente aos ribossomos. Níveis elevados de ppGpp resultam na inibição da síntese de RNAr (Figura 32.7); a forma pela qual o ppGpp inibe os óperons de RNAr, contudo, ainda

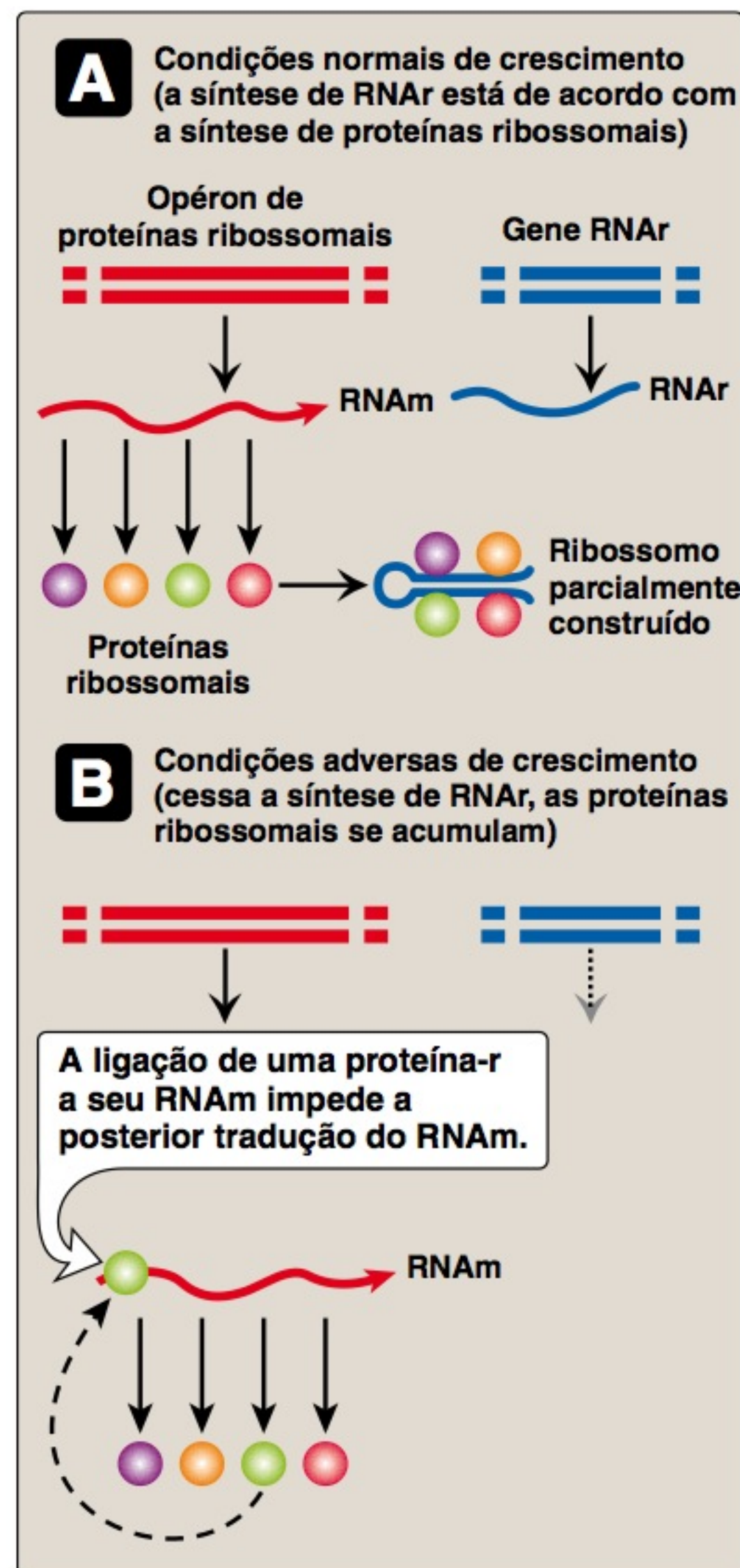
**Figura 32.7**

Regulação da transcrição pela resposta estrigente à falta de aminoácidos.

não está esclarecida. (Nota: além do RNAr, a síntese de RNAt e de algum RNAm é também inibida; no entanto, a síntese de RNA mensageiros que codificam enzimas necessárias para a biossíntese de aminoácidos não é inibida. Desse modo, o controle transcricional pela resposta estrigente resulta, no final, em redução da síntese proteica até que os aminoácidos estejam novamente disponíveis.)

2. **Proteínas ribossomais reguladoras.** Os óperons para proteínas ribossomais (proteínas-r) podem ser inibidos pelo excesso de seus próprios produtos proteicos. Para cada óperon, uma proteína-r específica funciona na repressão da tradução do RNAm policistrônico daquele óperon (Figura 32.8). Isso ocorre pela ligação da proteína-r à sequência de Shine-Dalgarno (SD), localizada no RNAm, imediatamente anterior (a montante) ao códon de iniciação AUG (veja a p. 439), de forma que a proteína atua como impedimento físico à ligação da subunidade menor do ribossomo à sequência SD. Uma proteína-r, desse modo, inibe a síntese de todas as proteínas-r do óperon. A mesma proteína-r liga-se ao RNAr, com afinidade maior do que a ligação ao RNAm. Se a concentração de RNAr diminui, a proteína-r torna-se disponível para ligar-se ao seu próprio RNAm e inibir sua tradução. Essa regulação coordenada mantém a síntese das proteínas-r em equilíbrio com a transcrição do RNAr, de modo que todos estejam em quantidades apropriadas para a formação dos ribossomos.

IV. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA NOS EUCARIOTOS

**Figura 32.8**

Regulação da tradução por excesso de proteínas ribossomais.

O alto grau de complexidade dos genomas eucarióticos, assim como a presença de membrana nuclear, implica na necessidade de um amplo espectro de processos reguladores. Assim como para os procariotos, o principal sítio de regulação ocorre no nível da transcrição. Novamente, observamos o tema de moléculas de ação trans ligando-se a elementos de ação cis. Óperons, porém, não ocorrem nos eucariotos, que devem contar com estratégias alternativas para solucionar o problema de como regular de forma coordenada todos os genes necessários para uma resposta específica. Nos eucariotos, a expressão gênica é também regulada em múltiplos níveis, além da transcrição. Por exemplo, as principais formas de regulação pós-transcricional no nível do RNAm são o corte-junção alternativo do RNAm, o controle da estabilidade do RNAm e o controle da eficiência da tradução. Regulação adicional, no nível das proteínas, ocorre por meio de mecanismos que modulam a estabilidade, o processamento ou o direcionamento da proteína para seu sítio de ação.

A. Moléculas de ação trans

Fatores de transcrição são proteínas específicas que se ligam ao DNA (fatores de ação trans) e funcionam como ativadores da transcrição. Elas apresentam pelo menos dois domínios de ligação: o domínio de ligação ao DNA, descrito acima (veja a p. 450) e o domínio de ativação da transcrição. O domínio de ativação da transcrição permite a ligação de outras proteínas, como coativadores (p. ex., *histona-acetiltransferases* ou *HATs*, veja a Figura 30.11 na p. 422). Estas facilitam a formação do complexo de iniciação da transcrição (*RNA-polimerase II* mais fatores gerais de transcrição, veja a p. 423) no promotor e, desse modo, ativam a transcrição (Figura 32.9). A regulação é alcançada pela formação de um complexo multiproteico ligado ao DNA, com interações proteína-proteína e proteína-DNA controlando a reunião das moléculas que constituem o complexo. Embora os domínios de ativação recrutem uma variedade de proteínas, o efeito específico de qualquer uma delas depende da composição proteica

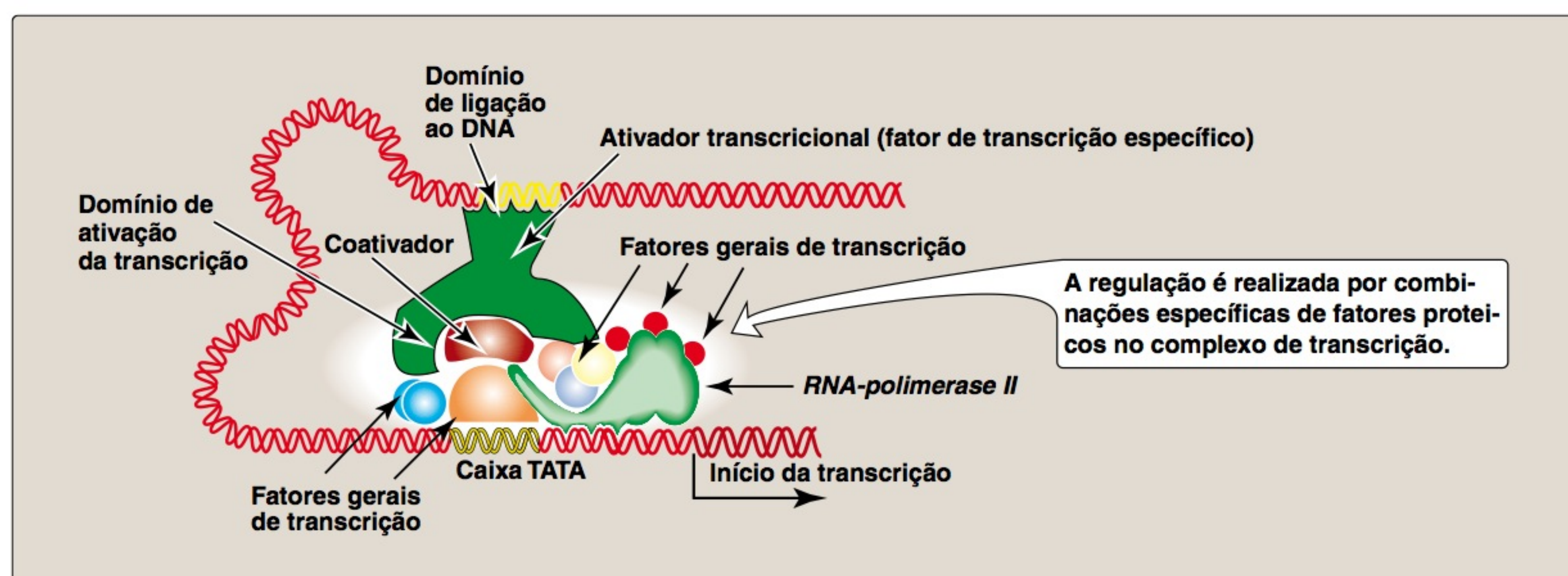


Figura 32.9

Controle combinatório da transcrição.

do complexo. Isso é conhecido como controle combinatório. (Nota: proteínas de ligação ao DNA também podem inibir a transcrição.)

B. Elementos reguladores de ação cis

A necessidade de regular de forma coordenada um grupo de genes para afetar uma determinada resposta é de importância fundamental em organismos multicelulares, incluindo os humanos. Um tema básico ocorre repetidamente: uma proteína liga-se ao elemento regulador para cada um dos genes do grupo e afeta coordenadamente a expressão daqueles genes, mesmo que estejam em cromossomos diferentes. Por exemplo, elementos de resposta a hormônios (ERH) são sequências de DNA de ação cis que se ligam a fatores proteicos de ação trans e regulam a expressão gênica em resposta a sinais hormonais. Em geral, os hormônios ligam-se a receptores intracelulares (p. ex., os hormônios esteroides, veja a p. 240) ou a receptores da superfície celular (um exemplo é o hormônio peptídico glucagon, veja a p. 314).

1. Sinais reguladores mediados por receptores intracelulares.

Membros da superfamília de receptores nucleares – que inclui receptores para glicocorticoides, mineralocorticoides, hormônios sexuais, vitamina D, ácido retinoico e hormônios da tireoide – influenciam diretamente a atividade de fatores de transcrição, por alterarem a afinidade de ligação desses fatores ao DNA. A via de transdução de sinal é direta, pois o receptor e o fator de transcrição são a mesma molécula. Por exemplo, um hormônio esteroide, hidrofóbico, como o cortisol (um glicocorticoide), liga-se a receptores solúveis (Figura 32.10). A ligação do hormônio esteroide determina uma alteração conformacional no receptor e o ativa. O complexo receptor-ligante entra no núcleo, dimeriza e, em associação com coativadores, liga-se via motivo dedo de zinco ao DNA nuclear, em um elemento regulador de ação cis, o elemento de resposta a glicocorticoides (ERG) – um exemplo de ERH. Cada um dos genes responsivos ao cortisol está sob controle de seu próprio ERG. A ligação do complexo hormônio-receptor ao ERG permite a expressão coordenada de um grupo de genes-alvo, mesmo quando esses genes estão localizados em cromossomos diferentes. O ERG pode estar localizado em sequências anteriores (a montante) ou posteriores (a jusante) ao gene que regula, e pode funcionar mesmo a grandes distâncias desses genes. O ERG pode, então, atuar como um real estimulador (veja a

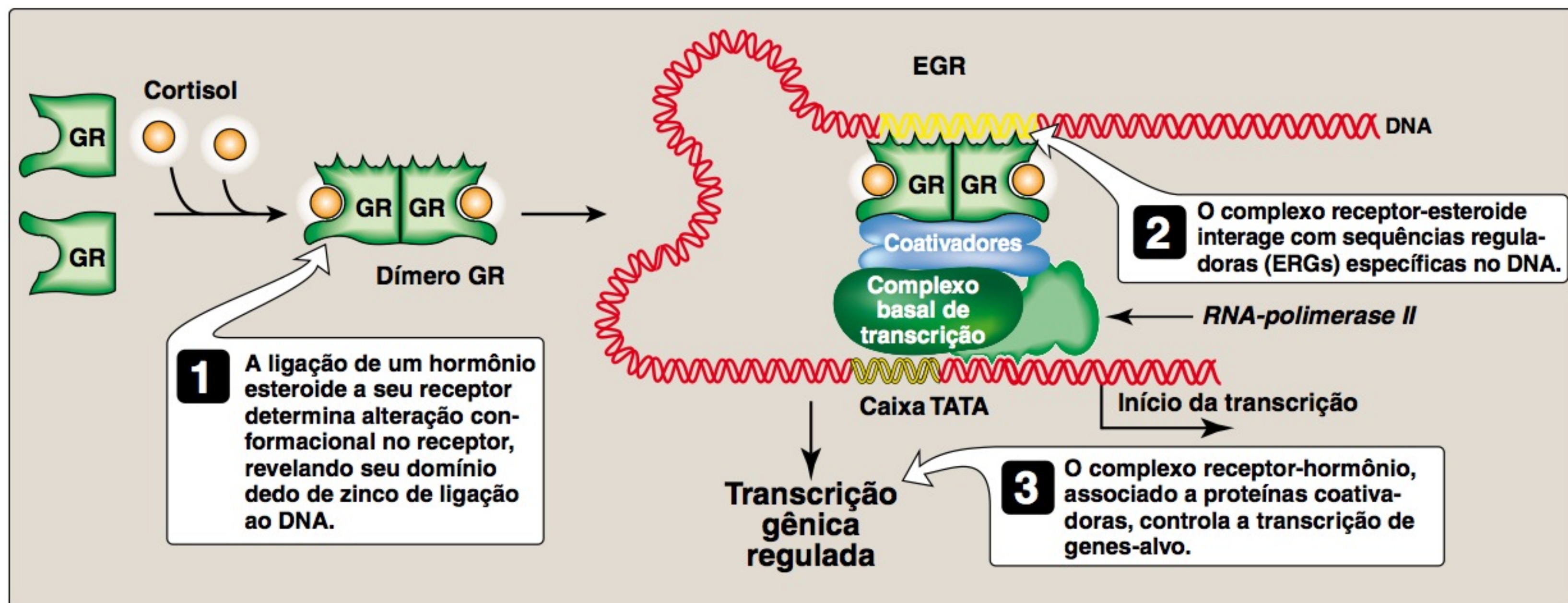


Figura 32.10

Regulação da transcrição por receptores intracelulares para hormônios esteroides. ERG = elemento de resposta a glicocorticoides (exemplo de elemento de resposta a hormônio); GR = receptor para glicocorticoide.

p. 424). (Nota: Se estiverem associados a correpressores, os complexos hormônio-receptor inibem a transcrição.)

- Sinais reguladores mediados por receptores da superfície celular.** Os receptores da superfície celular incluem os receptores para insulina, adrenalina e glucagon. O glucagon, por exemplo, é um hormônio peptídico que se liga a um receptor acoplado à proteína G na membrana plasmática. Esse sinal extracelular é então transduzido em AMPc intracelular (Figura 32.11; veja também a Figura 8.7, na p. 95), que pode afetar a expressão proteica (e sua atividade) via modificações covalentes mediadas pela *proteína-quinase A*. Em resposta a um aumento no AMPc, um fator de ação trans (proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc, ou CREB, de *cAMP-response element-binding protein*) é fosforilado e ativado. A CREB ativada liga-se, via zíper de leucina, a um elemento de ação cis, o elemento de resposta ao AMPc (CRE), resultando na transcrição de genes-alvo que tenham um CRE em seus promotores. (Nota: os genes para *fosfoenolpiruvato-carboxicinas* e *glicose-6-fosfatase*, enzimas-chave da gliconeogênese [veja a p. 117], são exemplos de genes cuja expressão é estimulada pelo sistema AMPc/CRE/CREB).

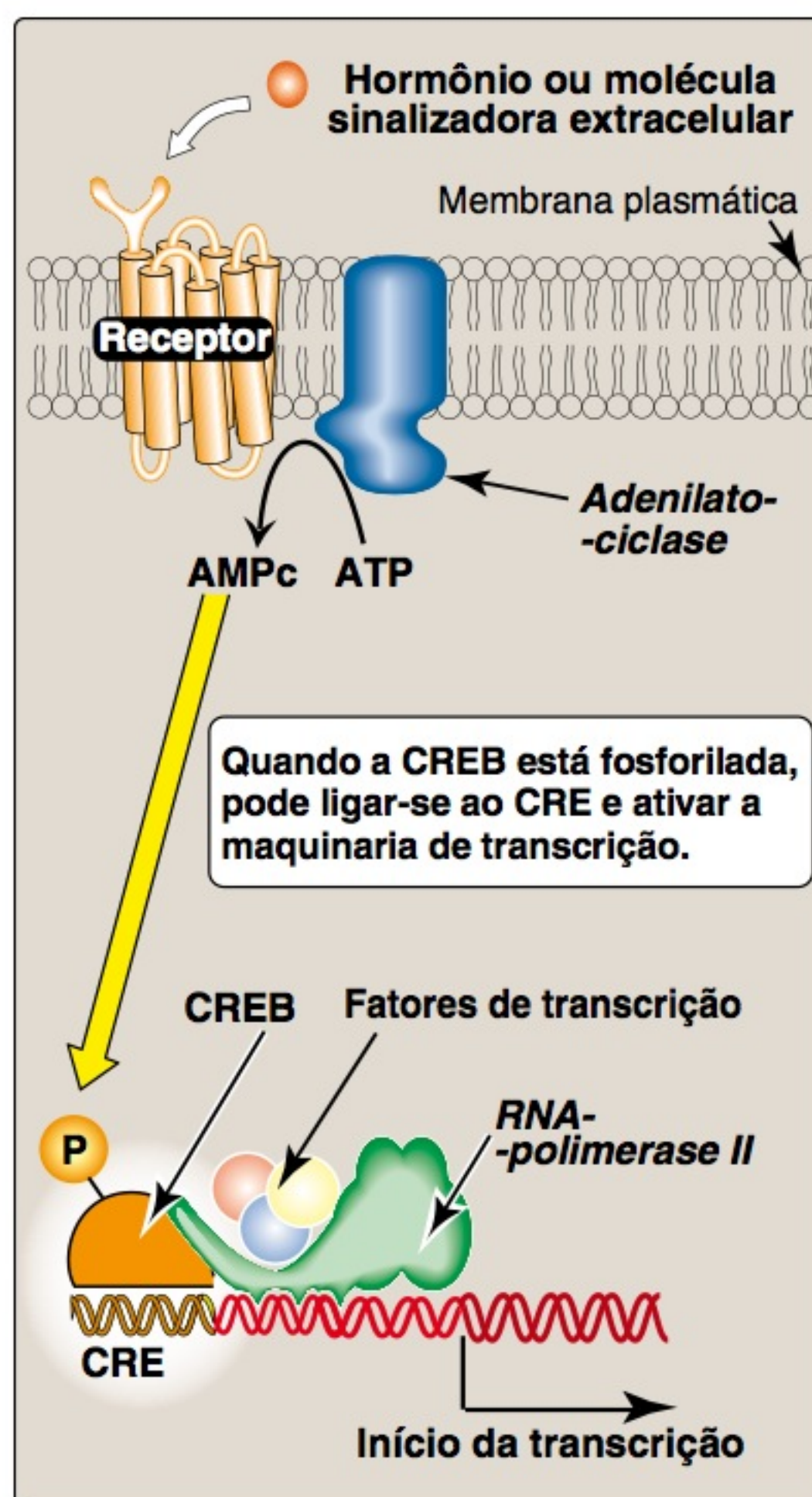


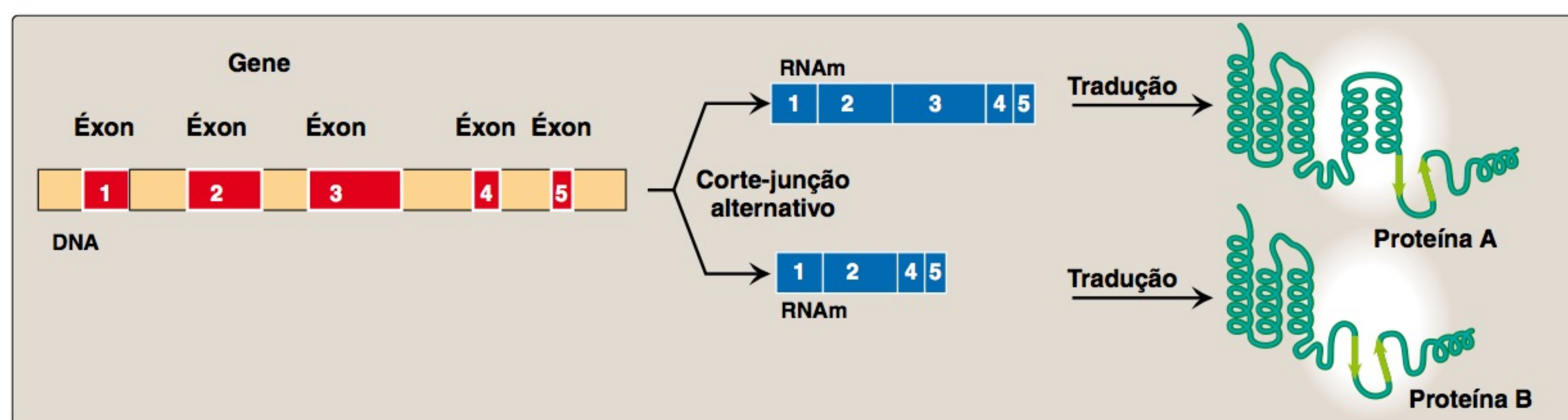
Figura 32.11

Regulação da transcrição por receptores localizados na membrana plasmática.

C. Regulação por processamento cotranscricional e pós-transcricional do RNAm

O RNAm eucariótico sofre diversas modificações antes de ser exportado do núcleo ao citoplasma para ser utilizado na síntese proteica (veja a p. 418). A adição de um “quepe” na extremidade 5’, a poliadenilação na extremidade 3’ e o processo de corte-junção são eventos essenciais do processamento para a produção de um mensageiro funcional a partir da maioria dos pré-RNAm em eucariotos (veja a p. 425), e variações nesses eventos podem afetar a expressão gênica. Além disso, a estabilidade do mensageiro também afeta a expressão gênica.

- A escolha do sítio de corte-junção.** Produtos proteicos com especificidade tecidual (isoformas proteicas) podem ser produzidos a partir do mesmo pré-RNAm, por processamento diferencial co-


Figura 32.12

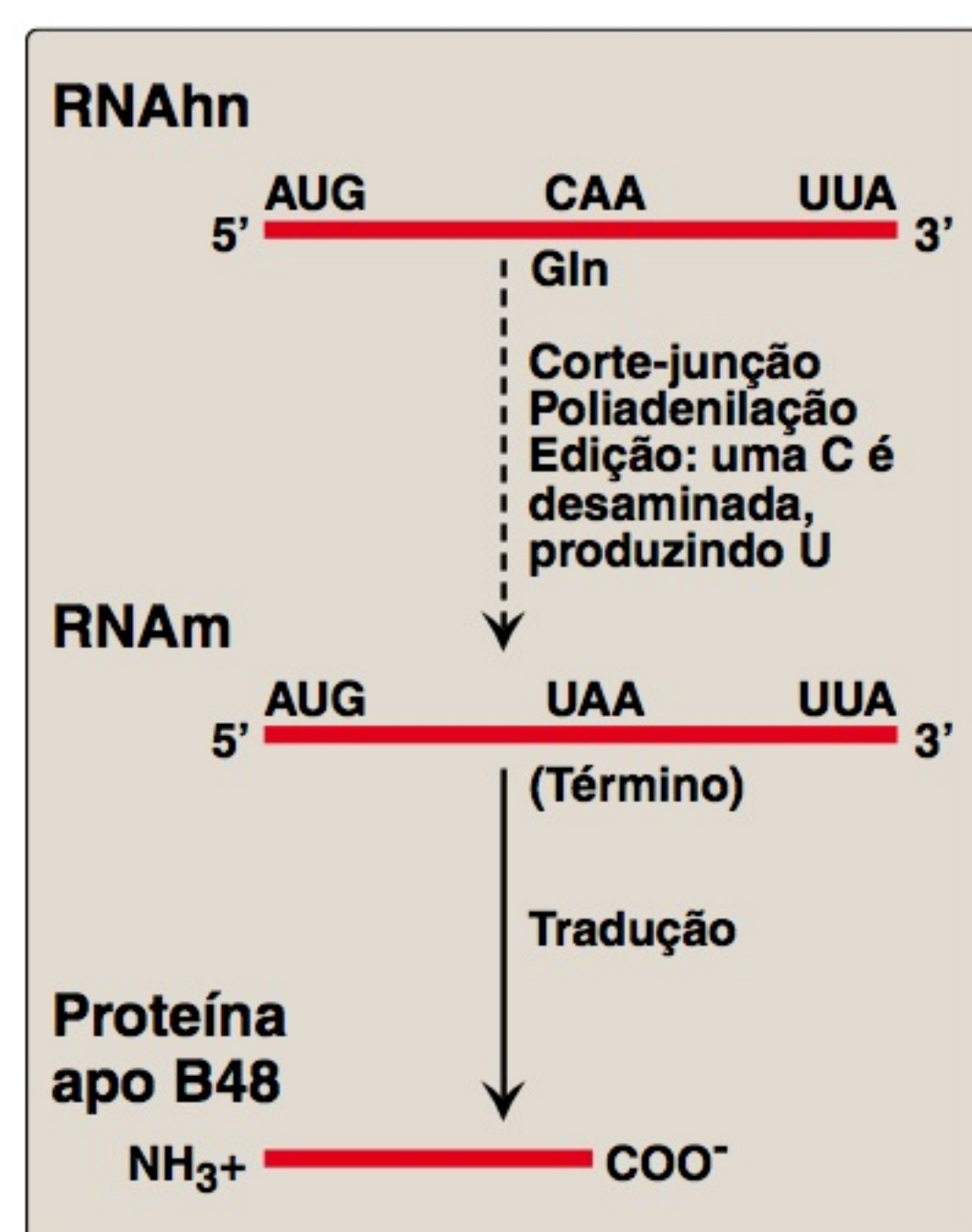
Corte-junção alternativo produz múltiplas proteínas relacionadas, ou isoformas, a partir de um único gene.

transcricional, especialmente com a utilização de sítios alternativos de corte-junção (Figura 32.12). Por exemplo, a tropomiosina (TM) é uma proteína de ligação a filamentos de actina, que regula o funcionamento da actina em células musculares e não musculares. Seu pré-RNA sofre processos diferenciais de corte-junção, fornecendo diversas isoformas de TM com especificidade tecidual (veja a p. 427).



Mais de 60% dos aproximadamente 30.000 genes do genoma humano sofrem processos diferenciais de corte-junção. O uso de poliadenilação alternativa e de sítios alternativos de início da transcrição também é observado em muitos genes. Isso explica, pelo menos em parte, como 30.000 genes podem originar mais de 100.000 proteínas.

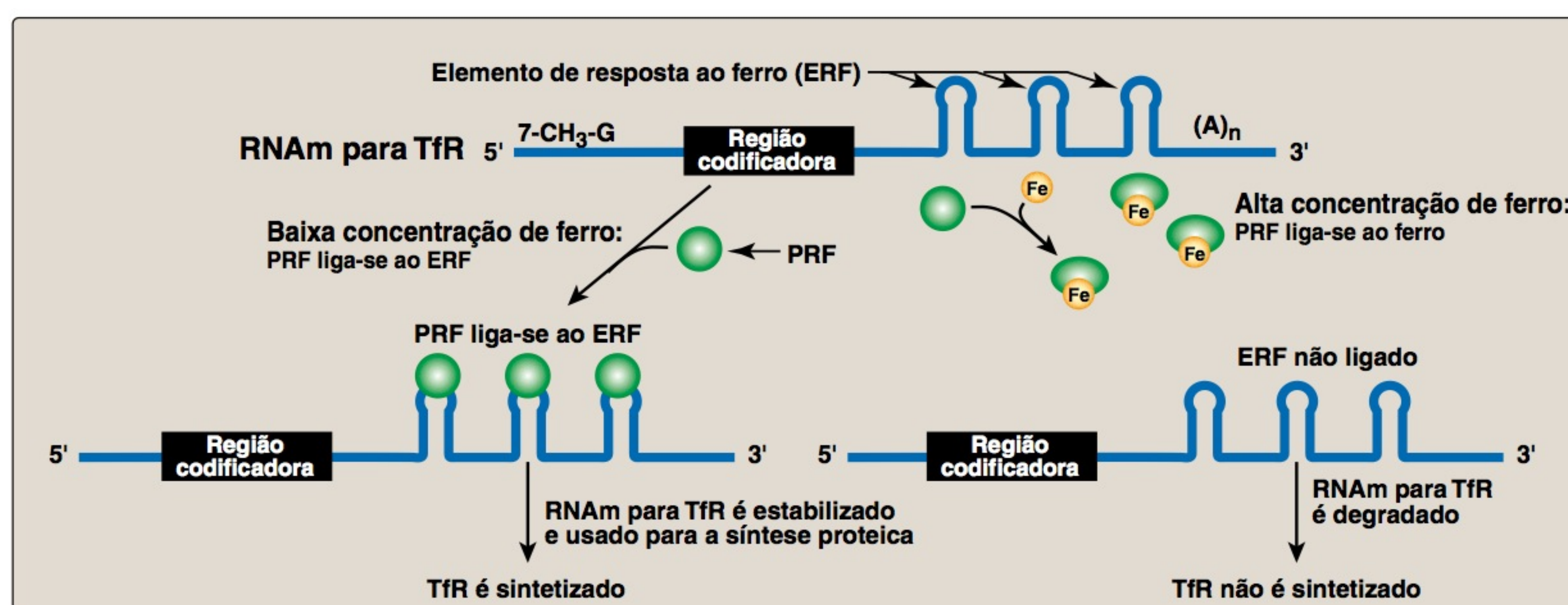
2. **Edição do RNA.** Mesmo após ter sido completamente processado, o RNA pode sofrer modificações pós-transcricionais adicionais, nas quais uma de suas bases é alterada. Isso é conhecido como edição do RNA. Um exemplo importante, nos humanos, ocorre com o transcrito da apoproteína (apo) B – proteína essencial componente das lipoproteínas quilomicra (veja a p. 228) e VLDL (veja a p. 231). O RNA para a apo B é produzido no fígado e no intestino delgado; contudo, apenas no intestino o resíduo C no códon (CAA) para a glutamina é desaminado, produzindo U, transformando o códon que codificava aminoácido em códon sem sentido, ou de término (UAA, Figura 32.13). No intestino, isso resulta na produção de uma proteína mais curta (apo B48, representando 48% da mensagem, que é incorporada aos quilomicra) do que aquela produzida no fígado (apo B100, com toda a mensagem, incorporada nas VLDL).
3. **Estabilidade do RNA.** O tempo que um RNA permanece no citosol antes de ser degradado influencia a quantidade de produto proteico que pode ser sintetizada a partir daquele mensageiro. A regulação do metabolismo do ferro e o processo de silenciamento gênico do RNA de interferência fornecem bons exemplos da importância da estabilidade do RNA na regulação da expressão gênica.
 - a. **Metabolismo do ferro.** A transferrina é uma proteína plasmática que transporta o ferro. Ela se liga a receptores na

**Figura 32.13**

Edição do RNA para a apo B no intestino e produção da proteína apo B48, necessária para a síntese de quilomicra.

superfície da célula (receptores de transferrina ou TfR), que são internalizados, assim fornecendo ferro às células-alvo. O RNAm para o TfR apresenta elementos de resposta ao ferro (ERF) de ação cis em sua extremidade 3'. Os ERFs apresentam estrutura em grampo, que pode ligar-se às proteínas reguladoras do ferro (PRF), de ação trans (Figura 32.14). Quando a concentração de ferro na célula está baixa, as PRFs ligam-se aos ERFs e estabilizam o RNAm para os TfRs, permitindo a síntese de TfR. Quando os níveis intracelulares de ferro estão altos, as PRFs ligam-se preferencialmente ao ferro, em vez de se ligarem aos ERFs. A ausência de PRFs ligadas ao RNAm acelera sua degradação, resultando em menor síntese de TfRs. (Nota: o RNAm para a apoferritina, uma proteína de armazenamento do ferro, também apresenta ERFs; entretanto, os elementos encontram-se na extremidade 5' do RNAm. Quando os níveis de ferro na célula estão baixos, as PRFs ligam-se aos ERFs e impedem a utilização do RNAm. Assim, menos ferro pode ser armazenado, permitindo que mais ferro seja transportado para as células. À medida que o ferro acumula-se na célula, entretanto, as PRFs ligam-se ao ferro e perdem a afinidade pelo ERF no RNAm, resultando na produção de moléculas de apoferritina, disponíveis para armazenar o excesso de ferro.)

- b. RNA de interferência (RNAi).** RNA de interferência ou RNAi é um mecanismo de silenciamento gênico pela redução na expressão do RNAm, seja pela repressão da tradução ou pelo aumento da degradação. Acredita-se que esse mecanismo tenha um papel fundamental em processos como a proliferação celular, a diferenciação celular e a apoptose. O RNAi é mediado por pequenos RNAs não codificantes (~22 pb) chamados microRNA (RNAmi), que surgem a partir de transcritos nucleares bem maiores, codificados no genoma, parcialmente

**Figura 32.14**

Regulação da síntese do receptor de transferrina (TfR). ERF = elemento de resposta ao ferro; PRF = proteínas reguladoras do ferro (proteínas de ligação ao ERF).

processados no núcleo e então transportados ao citoplasma. Ali, uma *endonuclease* (*Dicer*) completa o processamento e gera pequenos RNAmi de dupla-fita (df). Uma única fita (a fita guia ou antissenso) do RNAmidf associa-se a proteínas no citosol, para formar um complexo silenciador induzido por RNA ou RISC. A fita-guia, componente do RISC, então hibridiza com uma sequência complementar de um RNAm alvo, completo, trazendo o RISC para o RNAm. Isso pode resultar na repressão da tradução do RNAm ou em sua degradação por uma *endonuclease* ("Fatiadora" ou *Slicer/Argonauta/Ago*) do RISC. A extensão da complementaridade parece ser um fator determinante. O RNAi também pode ser disparado por pequenos RNAs de interferência (RNAsi, de *small interfering*) de dupla-fita introduzidos em uma célula a partir de fontes exógenas. (Nota: em vertebrados, a função dos RNAsi que podem surgir a partir de fontes endógenas ainda não foi esclarecida.) Aplicações dos RNAi em medicina e em pesquisa estão crescendo rapidamente.

- 1) **Terapia de RNAi.** A modulação da expressão gênica por RNAi fornecido a partir de fontes exógenas para disparar RNAi apresenta enorme potencial terapêutico. A primeira tentativa clínica de terapia baseada no RNAi envolveu pacientes com degeneração macular relacionada à idade (DMRI), a principal forma de cegueira em adultos no mundo. A DMRI é disparada pela superprodução do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF). Nos pacientes com DMRI, o excesso dessa proteína leva ao brotamento de excesso de vasos sanguíneos atrás da retina. Os vasos podem sangrar, nublando e, com frequência, destruindo completamente a visão; desse modo, a DMRI é chamada também de degeneração macular do tipo "úmido". O medicamento usando RNAsi – um RNAdf curto que tem como alvo específico o RNAm do VEGF e promove sua degradação – é injetado no olho. Uma molécula de RNAsi pode destruir centenas de RNAm, resultando na supressão de milhares de proteínas de VEGF, suprimindo assim a angiogênese danosa que ocorre na retina. (Nota: o primeiro teste clínico, envolvendo cerca de 24 pacientes, mostrou resultados promissores. No entanto, tentativas subsequentes foram suspensas.) Embora a lista de potenciais doenças em que se poderia aplicar medicamentos baseados em RNAi seja extensa, o desenvolvimento de tais fármacos é dificultado pelo problema relativo a como administrá-los aos alvos corretos.

4. **Tradução do RNAm.** A regulação da expressão gênica pode também acontecer no nível da tradução. Um desses mecanismos de regulação é a fosforilação do fator de iniciação da tradução em eucariotos, o eIF-2 (Figura 32.16). A fosforilação do eIF-2 inibe sua função e, desse modo, inibe a tradução no passo de iniciação (veja a p. 443). A fosforilação é catalisada por *cinases* ativadas em resposta a condições ambientais, como falta de aminoácidos, deficiência do núcleo heme, presença de RNAdf e acúmulo de proteínas dobradas de forma incorreta no retículo endoplasmático rugoso. (Nota: a fosforilação do eIF-2 impede sua reativação inibindo a troca GDP-GTP.)

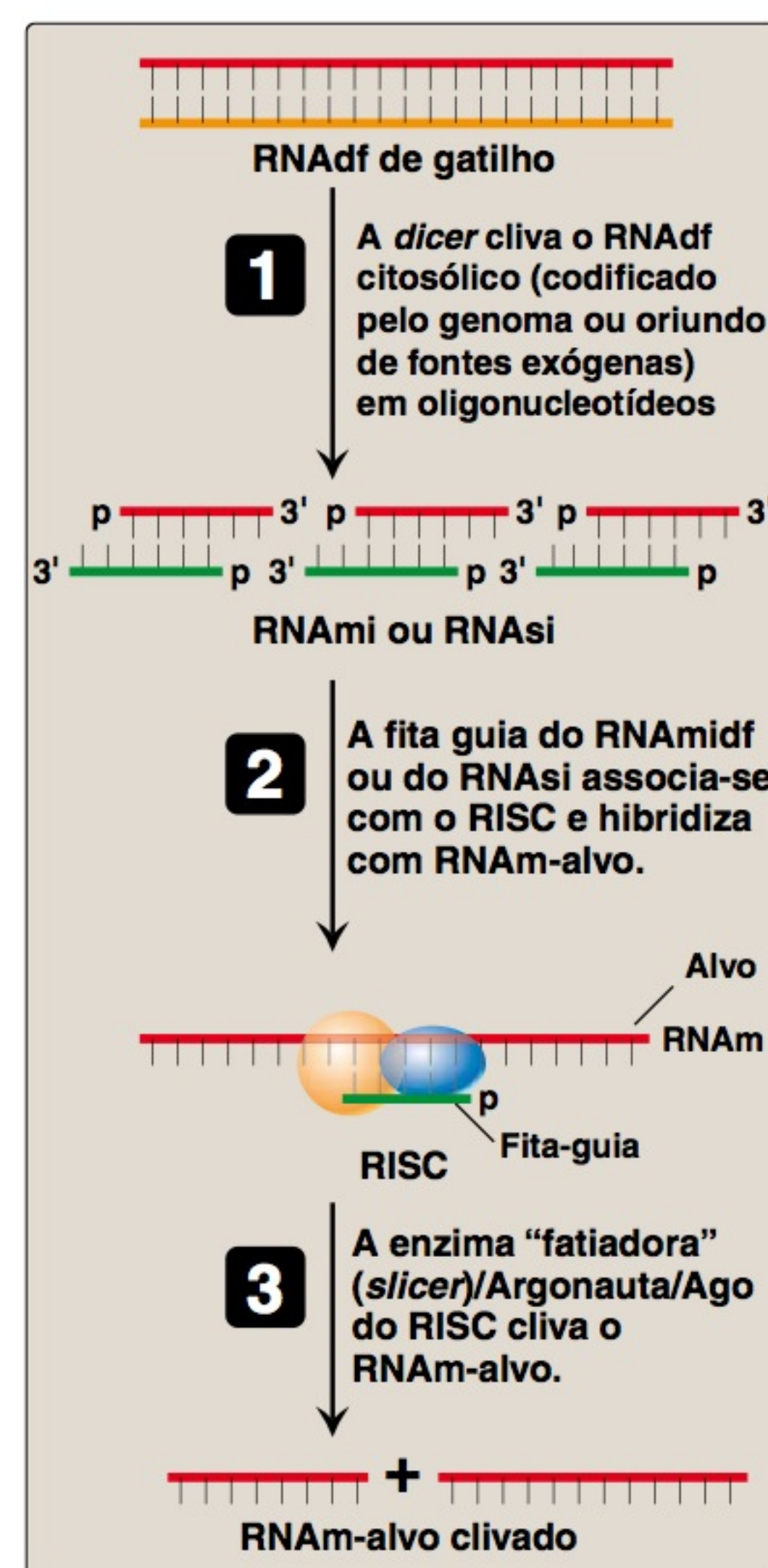
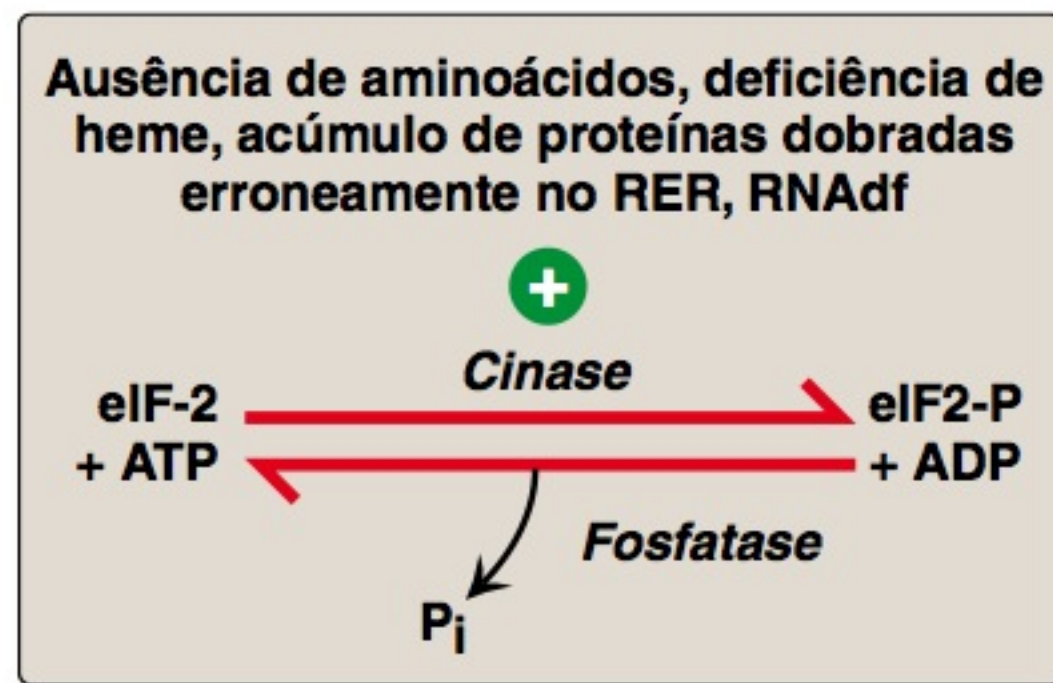
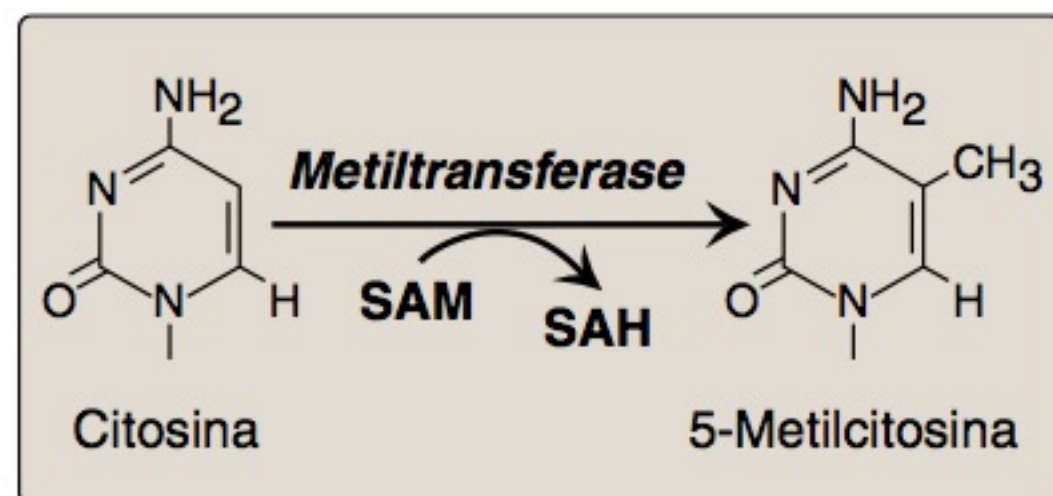


Figura 32.15

RNA de interferência, ou RNAi, por clivagem do RNAm-alvo. (Nota: RNAi pode também resultar da inibição da tradução do RNAm-alvo.)

**Figura 32.16**

Regulação da iniciação da tradução nos eucariotos por fosforilação do eIF-2. RER = retículo endoplasmático rugoso.

**Figura 32.17**

A metilação da citosina no DNA eucariótico. SAM = S-adenosilmetionina; SAH = S-adenosil-homocisteína.

D. Regulação por meio de modificações no DNA

A expressão gênica em eucariotos é influenciada também pela disponibilidade de DNA para o aparato de transcrição, pela quantidade de DNA e pelo arranjo do DNA. (Nota: transições localizadas entre as formas B e Z do DNA [veja a p. 398] também podem afetar a transcrição gênica.)

1. **Acesso ao DNA.** Em eucariotos, o DNA é encontrado associado a histonas e a outras proteínas para formar a cromatina (veja a p. 409). Os genes mais ativamente transcritos são encontrados em uma forma relativamente relaxada de cromatina, chamada de eucromatina, ao passo que os segmentos mais inativos de DNA são encontrados na altamente condensada heterocromatina. Essas duas formas de cromatina diferem de diversos modos. A cromatina ativa contém histonas que foram covalentemente modificadas por acetilação ou por fosforilação em suas extremidades amino (veja a página 422 para uma discussão sobre a acetilação/desacetilação de histonas pelas enzimas *histona-acetiltransferase* e *histona-desacetilase*). Tais modificações diminuem as cargas positivas características dessas proteínas básicas. Desse modo, diminuem a força de sua associação com o DNA, carregado negativamente. Esse remodelamento da cromatina torna o nucleossomo mais relaxado (veja a p. 409), permitindo que os fatores de transcrição tenham acesso a regiões específicas do DNA. Uma segunda diferença entre cromatinas transcricionalmente ativas e inativas é a extensão da metilação de bases citosina em regiões ricas em CG (ilhas CpG) no promotor de muitos genes. A metilação ocorre por *metiltransferases* que utilizam S-adenosilmetionina como doador de metila (Figura 32.17). Evidências apoiam a ideia de que genes transcricionalmente ativos sejam menos metilados (hipometilados) que seus equivalentes inativos, sugerindo que a hipermetilação do DNA silencie a expressão gênica.

2. **Quantidade de DNA.** Uma alteração no número de cópias de um gene pode afetar a quantidade de produto resultante daquele gene. O aumento no número de cópias (amplificação gênica) tem contribuído para aumentar a complexidade genômica e é um processo normal durante o desenvolvimento de algumas espécies de não mamíferos. Contudo, em células de mamíferos, a amplificação gênica é observada em resposta a determinados fármacos usados em quimioterapia, como o metotrexato, inibidor da enzima *di-hidrofolato-redutase* (*DHFR*), necessária para a síntese de trifosfato de timidina (TTP), na via biossintética das pirimidinas (veja a p. 304). O TTP é essencial para a síntese de DNA. A amplificação gênica resulta no aumento do número de genes para *DHFR* e na resistência ao fármaco, permitindo a síntese de TTP.

3. **Arranjo do DNA.** O processo pelo qual são produzidas as imunoglobulinas (ou anticorpos) pelos linfócitos B envolve rearranjos permanentes do DNA nessas células. As imunoglobulinas (p. ex., IgG) consistem em duas cadeias leves e duas cadeias pesadas. Cada cadeia contém regiões de sequências variáveis de aminoá-

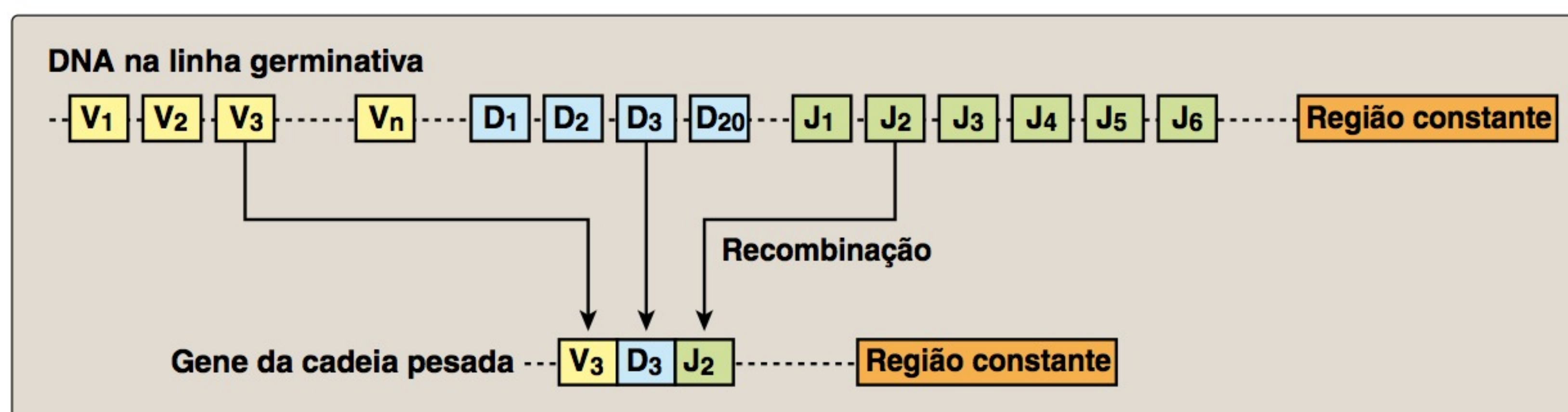


Figura 32.18

O rearranjo do DNA na produção de imunoglobulinas.

cidos e sequências constantes. A região variável é o resultado da recombinação somática de segmentos dentro dos genes, tanto da cadeia leve quanto da cadeia pesada. Durante o desenvolvimento dos linfócitos B, segmentos gênicos de variabilidade única (V), de diversidade (D) e de junção (J) são unidos por rearranjo gênico, formando uma região variável única (Figura 32.18). Esse processo permite a geração de 10^9 a 10^{11} imunoglobulinas diferentes a partir de um único gene, fornecendo a diversidade necessária para o reconhecimento de um número enorme de antígenos. (Nota: a mudança da forma ligada à membrana para a forma secretada das imunoglobulinas envolve a determinação de sítios poli-A [veja a p. 426].)

4. **Elementos móveis do DNA.** Transpósons (Tn) são segmentos móveis do DNA, que se movem de forma essencialmente casual de um sítio a outro, no mesmo cromossomo ou em cromossomos diferentes. O movimento é mediado pela *transposase*, enzima codificada pelo próprio Tn. O movimento pode ser direto, quando a *transposase* corta e insere o Tn em um novo sítio, ou replicativo, quando o transpósion é copiado, e a cópia é inserida em outro sítio, enquanto a original permanece no lugar. Nos eucariotos, incluindo os humanos, a transposição replicativa frequentemente envolve um RNA intermediário, em cujo caso o Tn é denominado retrotranspósion (veja a p. 408). A transposição expandiu o genoma, mas tem o potencial de alterar a expressão gênica e até mesmo de causar doenças. Embora a grande maioria dos retrotranspósions no genoma humano tenha perdido a capacidade de se mover, uma pequena porcentagem ainda está ativa. Acredita-se que essa transposição seja a base de alguns casos raros de hemofilia A e da distrofia muscular de Duchenne. (Nota: o problema cada vez mais crescente de bactérias resistentes a antibióticos é consequência, pelo menos em parte, da troca de plasmídeos entre células bacterianas. Se os plasmídeos contêm transpósions carregando genes de resistência a antibióticos, a bactéria que recebe um deles ganha resistência a um ou mais antimicrobianos.)

V. RESUMO DO CAPÍTULO

A expressão gênica resulta em um produto gênico funcional (seja RNA ou proteína) pelos processos de replicação, transcrição e tradução (Figura 32.19). Os **genes** podem ser **constitutivos** (sempre são expressos, também referidos como genes “mantenedores-da-casa”) ou **regulados** (expressam-se sob certas condições em todas as células ou em um conjunto de células). A capacidade de **expressar** (**regulação positiva**) ou **reprimir** (**regulação negativa**) apropriadamente seus genes é essencial para todos os organismos. A **regulação** da expressão gênica ocorre principalmente no nível da **transcrição**, tanto em **procariotos** quanto em **eucariotos**; é mediada pela **ligação** de **proteínas de ação trans** a **elementos reguladores de ação cis no DNA**. Nos **eucariotos**, a regulação também ocorre por meio de **modificações no DNA**, assim como por **eventos pós-transcricionais** e **pós-traducionais**. Nos **procariotos**, como na *E. Coli*, por exemplo, a regulação coordenada de genes cujos produtos proteicos são necessários para determinada via metabólica é realizada por meio de **óperons** (grupos de genes arranjados sequencialmente no cromossomo, junto a elementos reguladores que determinam sua transcrição). O **lac-óperon** contém os genes estruturais *Z*, *Y* e *A*, cujos produtos proteicos são necessários para o catabolismo da lactose. Quando apenas a **glicose estiver disponível**, o óperon será reprimido pela ligação da proteína repressora (produto do gene *lacI*) ao operador, impedindo a transcrição. Quando **apenas a lactose estiver presente**, o **óperon será induzido** por um isômero da lactose (**alolactose**), que se liga à proteína repressora, impedindo que esta se ligue ao operador. Além disso, o **AMPc liga-se à proteína CAP**, e o complexo **liga-se ao DNA** no sítio CAP. Isso **umenta a eficiência do promotor** e resulta na expressão dos genes estruturais pela produção de um **RNAm policistrônico**. Na presença **tanto de glicose quanto de lactose**, a glicose impede a formação do AMPc, e a **transcrição** desses genes é **mínima**. O **trp-óperon** contém genes necessários para a síntese de triptofano e, assim como o lac-óperon, apresenta **controles positivo e negativo**. Ao contrário do lac-óperon, o trp-óperon **também é regulado por atenuação**, em que a síntese do RNAm é encerrada antes de completar-se. A **transcrição** do **RNAr** e do **RNA_t** é **inibida** seletivamente em procariotos pela **resposta estrigente à privação de aminoácidos**. A **tradução** também é um sítio de **regulação gênica** em **procariotos**: as proteínas ribossomais, quando em excesso, ligam-se à sequência de Shine-Dalgarno em seu próprio RNAm policistrônico, impedindo que os ribossomos se liguem. A **regulação gênica é mais complexa em eucariotos**. Os **óperons não estão presentes**, mas a **regulação coordenada** da transcrição de genes localizados em diferentes cromossomos pode ser alcançada por meio da **ligação de proteínas de ação trans** a **elementos de ação cis**. Em **organismos multicelulares**, os **hormônios** podem **causar regulação coordenada**, seja por **ligação** do próprio **complexo hormônio-receptor ao DNA** (como no caso dos hormônios esteroides) ou por **ligação de uma proteína** ativada em **resposta a um segundo mensageiro** (como no caso do glucagon). Em ambos os casos, a ligação ao DNA é mediada por motivos estruturais, como os **dedos de zinco**. A **regulação cotranscricional e pós-transcricional** é observada também em **eucariotos** e inclui: **determinação do sítio de corte-junção**, **determinação do sítio poli-A**, **edição do RNAm** e variações na **estabilidade do RNAm**, como se observa na síntese do receptor de transferrina e com o RNA de interferência. A **regulação no nível da tradução** pode ser obtida pela **fosforilação (inibição) do eIF-2**. A expressão gênica em eucariotos é também influenciada pela disponibilidade de DNA para o aparato transcricional, a quantidade de DNA e o arranjo do DNA.

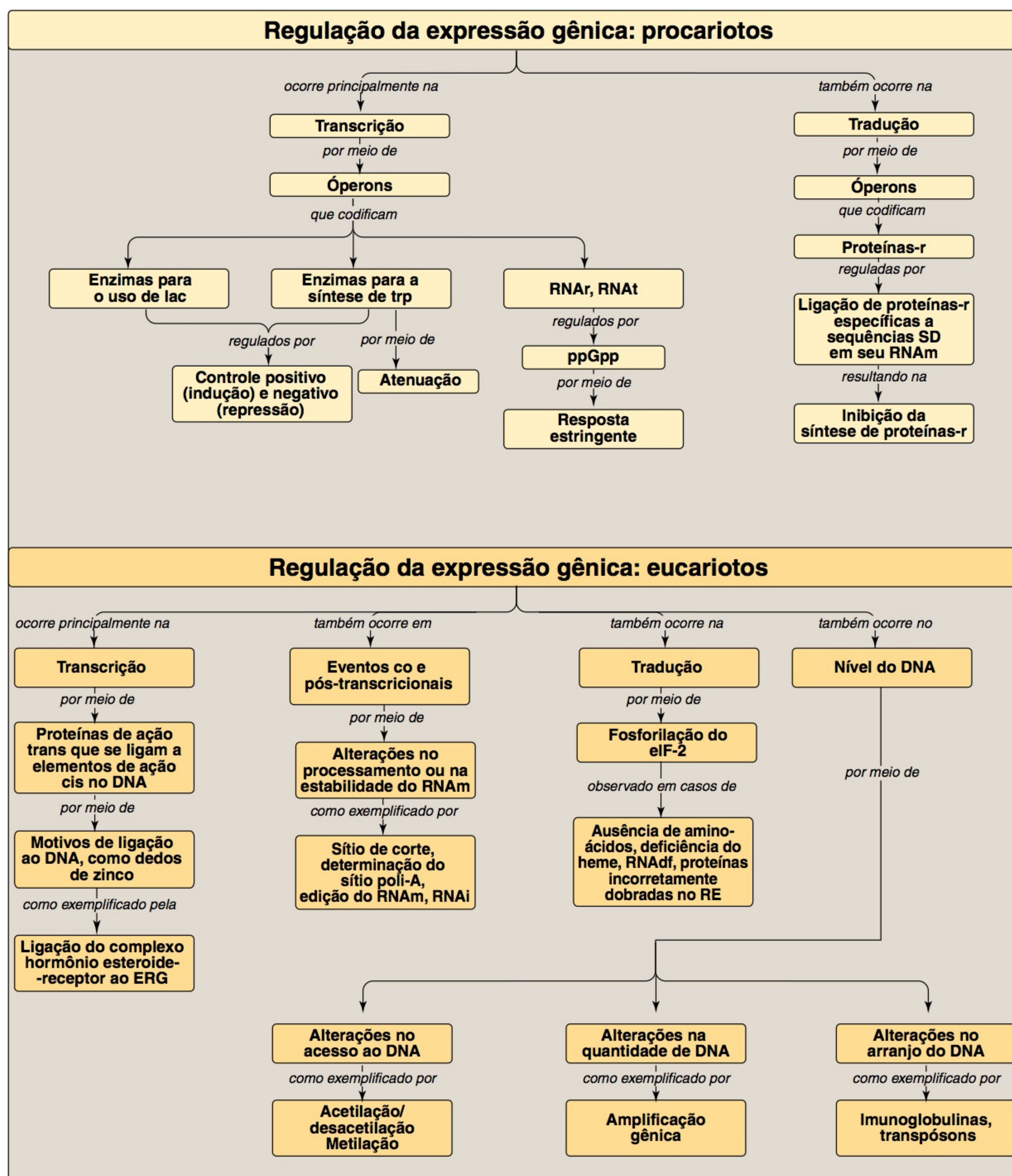


Figura 32.19

Resumo de conceitos-chave para a regulação da expressão gênica.

Questões para estudo

Escolha a única resposta correta.

- 32.1 Qual das seguintes mutações teria maior probabilidade de resultar na expressão reduzida do lac-óperon?
- i^- (não ocorre síntese da proteína repressora).
 - O^c (o operador não pode ligar à proteína opressora).
 - Cya^- (não há síntese de adenilato-ciclase).
 - Transportador da glicose funcionalmente prejudicado.
- 32.2 Qual das alternativas é melhor descrita como de ação trans?
- Sítio CAP.
 - Operador.
 - Promotor.
 - Repressor.
- 32.3 Quais dos seguintes processos representa a base para a expressão específica da apoproteína B48 no intestino?
- Rearranjo e perda do DNA.
 - Transposição do DNA.
 - Corte-junção alternativo do RNA.
 - Edição do RNA.
 - RNA de interferência.
- 32.4 Qual das seguintes afirmativas provavelmente é a mais verdadeira no caso da hemocromatose, doença em que ocorre acúmulo de ferro no organismo?
- O RNAm para o receptor de transferrina (TfR) é estabilizado pela ligação de PRFs a estruturas em grampo na porção 3', conhecidas como ERFs.
 - O RNAm para o TfR não se liga às PRFs e é degradado rapidamente.
 - O RNAm para a apoferritina não se liga às PRFs no grampo em 5' ERF e é traduzido.
 - O RNAm para a apoferritina liga-se às PRFs e não é traduzido.
 - B e C estão corretas.
- 32.5 Após diversas semanas de quimioterapia com metotrexato, o tumor de um paciente com câncer começa a mostrar sinais de resistência ao tratamento. Qual dos seguintes mecanismos seria mais provável para explicar essa resistência ao metotrexato?
- Produção excessiva de di-hidrofolato-redutase.
 - Produção excessiva de xantina-oxidase.
 - Deficiência de PRPP-sintase.
 - Deficiência de timidina-cinase.
 - Deficiência de timidilato-sintase.
- 32.6 A região ZYA do lac-óperon será eficientemente transcrita se:
- glicose e lactose estiverem disponíveis.
 - os níveis de AMPc estiverem baixos.
 - o operador sofrer uma mutação e não for possível a ligação do repressor.
 - o repressor sofrer uma mutação que prejudique a ligação do indutor.

Resposta correta = C. Na ausência de glicose, a adenilato-ciclase produz AMPc, que forma um complexo com a proteína CAP. O complexo AMPc-CAP liga-se ao sítio CAP no DNA, permitindo que a RNA-polimerase ligue-se mais eficientemente ao promotor no lac-óperon, de modo a aumentar a expressão do óperon. Com mutações cya^- , a adenilato-ciclase não é sintetizada, de modo que o óperon não pode ser acionado, mesmo na ausência de glicose e na presença de lactose. A ausência da proteína repressora ou a redução na capacidade do repressor em ligar-se ao operador resulta na expressão constitutiva (constante) do lac-óperon.

Resposta correta = D. Um repressor é uma molécula que transita até o DNA, liga-se a ele e reduz a expressão daquele DNA. Diz-se ser de ação trans. O sítio CAP, o operador e o promotor são parte do próprio DNA, e portanto são de ação cis.

Resposta correta = D. A produção de apoB48 no intestino e a produção de apoB100 no fígado resultam da edição do RNA no intestino, onde um códon de um aminoácido é trocado por um códon sem sentido pela desaminação pós-transcricional de uma C em uma U. O rearranjo do DNA e a transposição, assim como o RNA de interferência e o corte-junção alternativo, de fato alteram a expressão gênica, mas não representam a base da produção tecido-específica da apoB48.

Resposta correta = E. Quando os níveis de ferro no organismo estão altos, como observado na hemocromatose, há aumento na síntese da molécula de armazenamento do ferro, a apoferritina, e redução na síntese do receptor de transferrina (TfR), que medeia a captação de ferro pelas células. Esses efeitos são resultado da ligação de proteínas reguladoras do ferro (PRFs) de ação trans ao ferro, em vez de se ligarem a elementos de resposta ao ferro (ERFs) de ação cis, resultando na degradação do RNAm para o TfR e no aumento da tradução do RNAm para a apoferritina.

Resposta correta = A. O metotrexato interfere no metabolismo do folato, atuando como inibidor competitivo da enzima di-hidrofolato-redutase. Isso esgota o tetra-hidrofolato das células, impossibilitando a síntese de purinas e dTMP e é especialmente tóxico para células tumorais em rápido crescimento. A superprodução de di-hidrofolato-redutase, geralmente causada por amplificação de seu gene, pode sobrepor-se à inibição da enzima nas concentrações de metotrexato utilizadas para a quimioterapia, resultando em resistência do tumor ao tratamento com esse fármaco.

Resposta correta = C. O lac-óperon é regulado negativamente pela ligação da proteína repressora à região operadora, impedindo que a RNA-polimerase transcreva os genes Z, Y e A do óperon. Se a glicose estiver presente, o óperon não é transcrito devido à repressão por catabólito. O óperon é induzido em sua forma máxima apenas quando lactose está disponível, não há glicose e os níveis de AMPc aumentam. Se o indutor não se ligar ao repressor, o repressor liga-se ao operador e reprime a transcrição.

Biotecnologia e Doença Humana

I. VISÃO GERAL

No passado, os esforços para compreender os genes e a expressão gênica foram dificultados pela dimensão e pela complexidade imensas do ácido desoxirribonucleico humano (DNA). O genoma humano contém DNA com aproximadamente 3 bilhões (10^9) de pares de bases (pb), que contêm 20.000 a 30.000 genes codificadores de proteínas, localizados em 23 pares de cromossomos. Hoje, é possível determinar a sequência nucleotídica de longos pedaços de DNA, e toda a sequência do genoma humano foi determinada. Essa conquista (o chamado Projeto Genoma Humano) se tornou possível por meio de várias técnicas que têm contribuído para a compreensão de várias doenças genéticas (Figura 33.1). Essas técnicas incluem, em primeiro lugar, a descoberta de *endonucleases de restrição*, que permitem a dissecação de grandes moléculas de DNA em fragmentos definidos; em segundo lugar, o desenvolvimento de técnicas de clonagem, que forneceu um mecanismo para a amplificação de sequências nucleotídicas específicas; e, finalmente, a capacidade de sintetizar sondas específicas, que permitiu a identificação e a manipulação de sequências nucleotídicas de interesse. Essas e outras abordagens experimentais permitiram a identificação de sequências nucleotídicas, tanto normais como mutantes, no DNA. Esse conhecimento levou ao desenvolvimento de métodos de diagnóstico para doenças genéticas e a sucessos iniciais no tratamento de pacientes por meio da terapia gênica.

II. ENDONUCLEASES DE RESTRIÇÃO

Um dos maiores obstáculos à análise molecular do DNA genômico é o imenso tamanho das moléculas envolvidas. A descoberta de um grupo especial de enzimas bacterianas, chamadas *endonucleases de restrição* (enzimas de restrição), que clivam a dupla-fita (df) de DNA em fragmentos menores e mais fáceis de se manejar, abriu o caminho para a análise do DNA. Como cada enzima cliva o DNA em sequências nucleotídicas específicas, as enzimas de restrição são usadas experimentalmente na obtenção de segmentos de DNA precisamente definidos, chamados fragmentos de restrição.

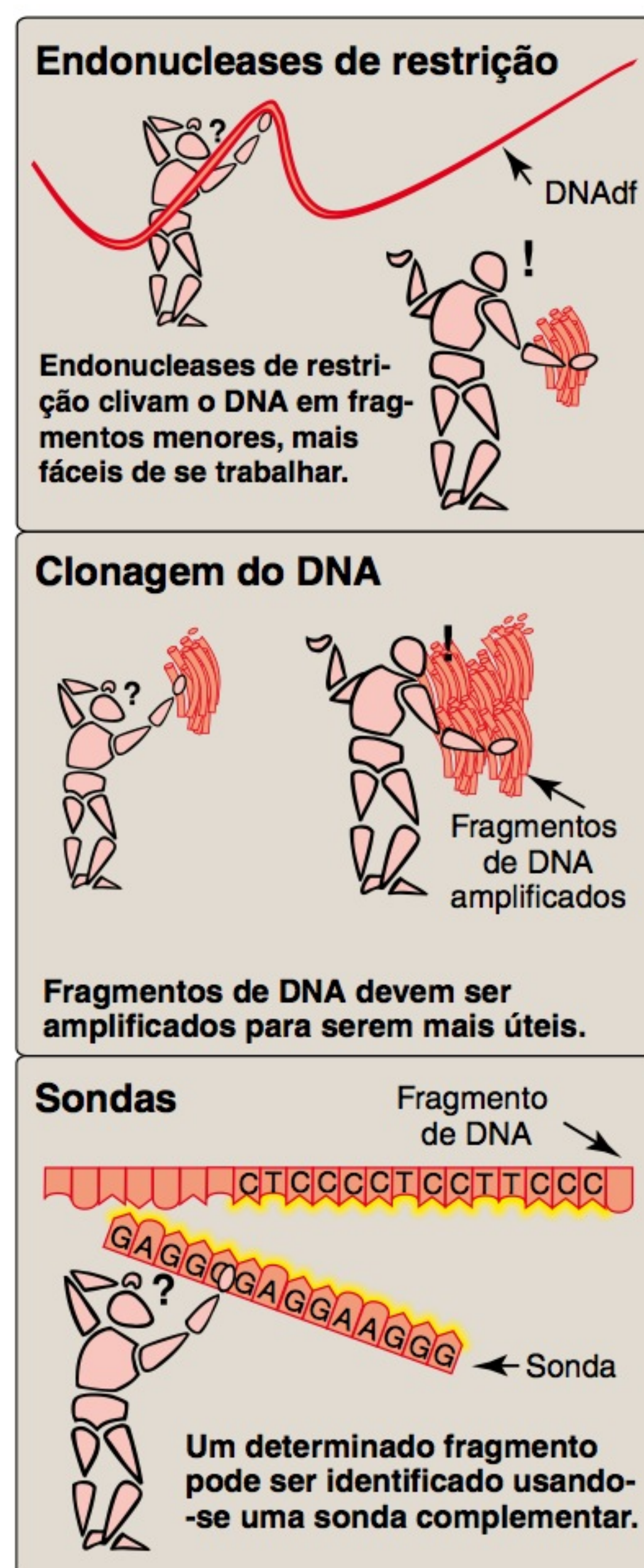
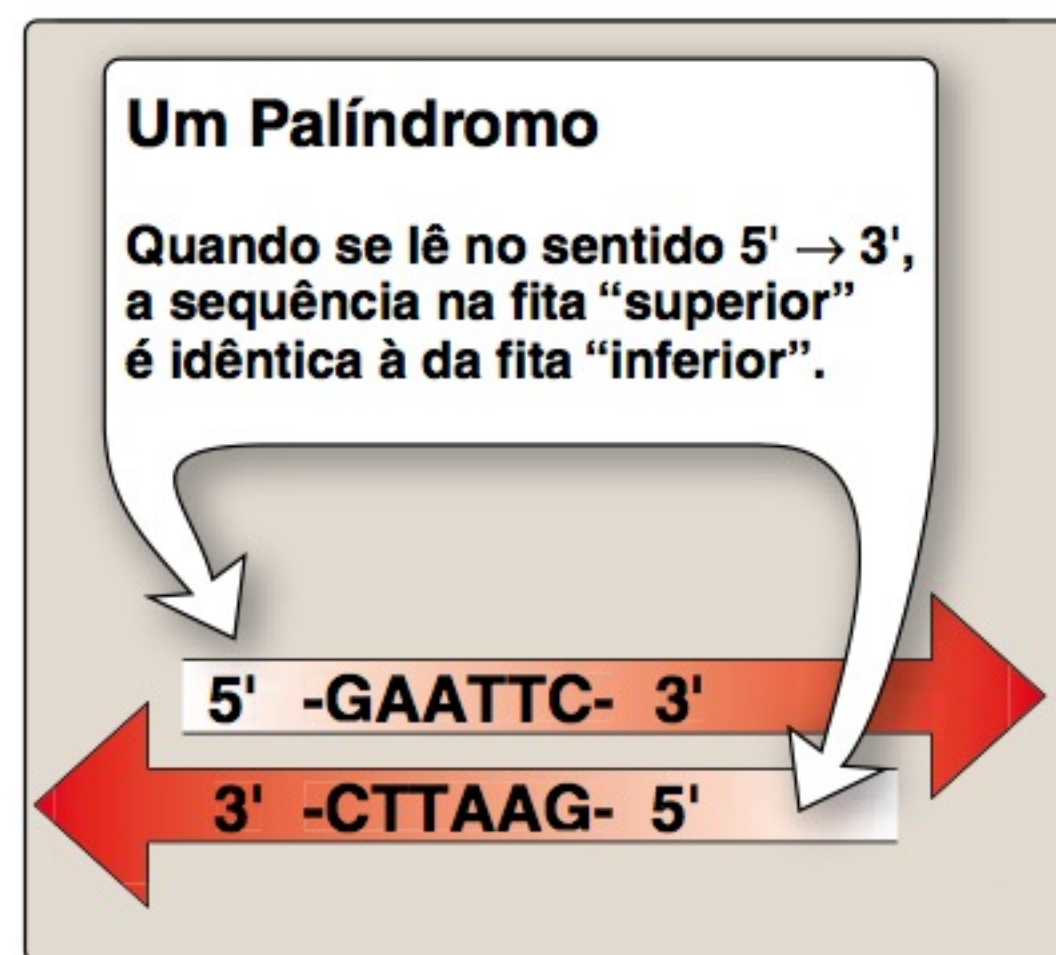


Figura 33.1

Três técnicas que facilitam a análise do DNA humano.

**Figura 33.2**

A sequência de reconhecimento da endonuclease de restrição EcoRI apresenta simetria rotacional dupla.

A. Especificidade das endonucleases de restrição

As *endonucleases de restrição* reconhecem segmentos curtos de DNA (geralmente quatro a oito pares de bases) que contêm sequências nucleotídicas específicas. Essas sequências, distintas para cada enzima de restrição, são palíndromos, isto é, exibem simetria rotacional nos dois sentidos (Figura 33.2). Isso significa que, em uma pequena região da dupla-hélice, a sequência nucleotídica na fita “de cima”, lida no sentido 5'→3', é idêntica àquela da fita “de baixo”, também lida no sentido 5'→3'. Dessa forma, se você virar a página de cabeça para baixo – isto é, girar 180 graus ao redor do seu eixo de simetria – a sequência permanece a mesma.



Em bactérias, *endonucleases de restrição* “restringem” a expressão de DNA não bacteriano por meio de clivagem. O DNA bacteriano é protegido por metilação de bases no sítio de restrição.

B. Nomenclatura

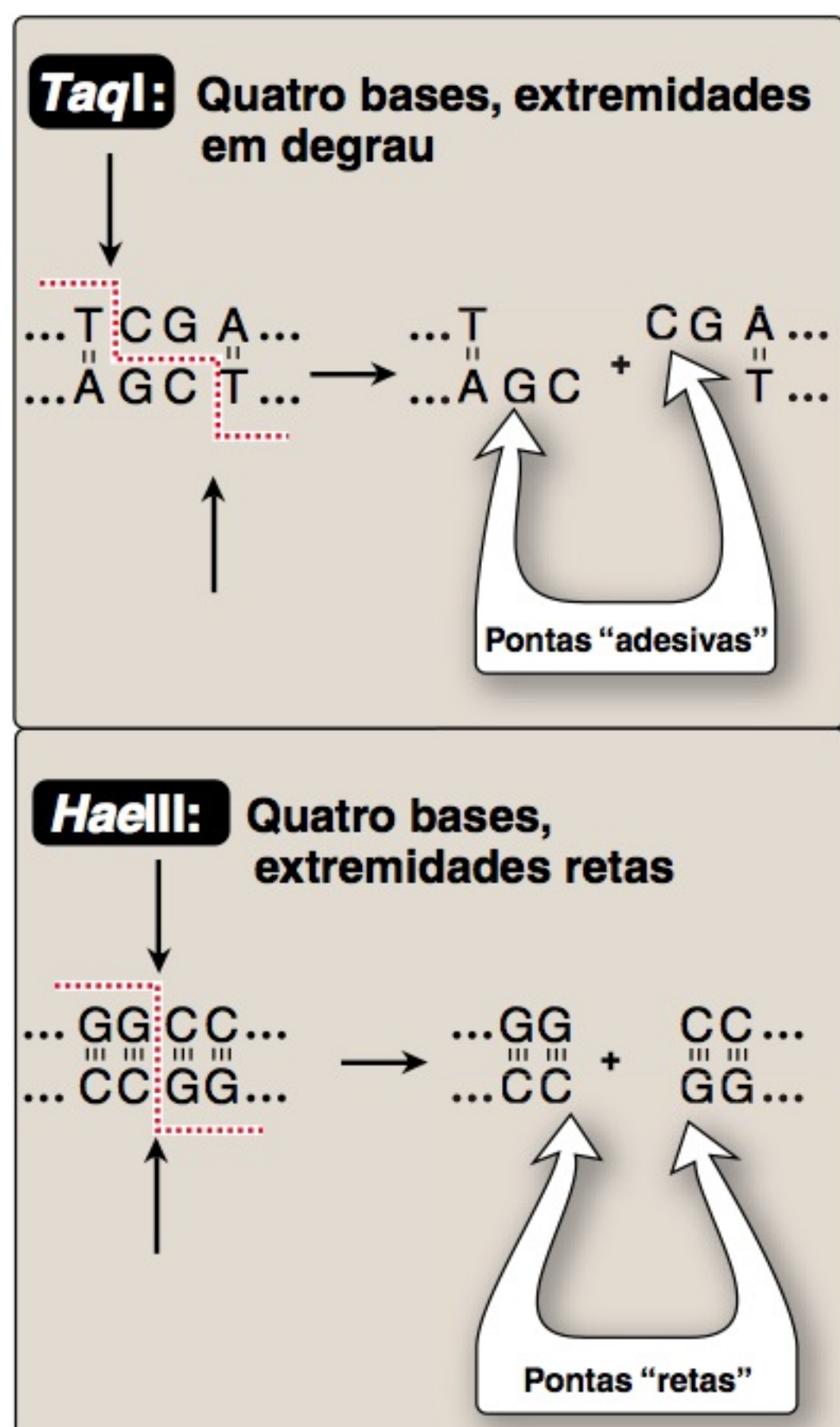
Uma enzima de restrição recebe sua denominação de acordo com o organismo do qual foi isolada. A primeira letra vem do gênero da bactéria. As próximas duas letras são do nome da espécie. Uma letra subscrita adicional indica o tipo ou a cepa, e um número final indica a ordem em que a enzima foi descoberta em um determinado organismo. Por exemplo, *HaeIII* é a terceira *endonuclease de restrição* isolada da bactéria *Haemophilus aegyptius*.

C. Pontas “adesivas” e pontas “retas”

As enzimas de restrição clivam o DNA de forma a produzir um grupo 3'-hidroxila em uma extremidade e um grupo 5'-fosfato em outra. Algumas *endonucleases de restrição*, como a *TaqI*, formam pontas escalonadas, que produzem terminações “adesivas” ou coesivas – isto é, os fragmentos de DNA resultantes apresentam sequências de fita simples, complementares umas às outras (Figura 33.3). Outras *endonucleases de restrição*, como a *HaeIII*, produzem fragmentos com terminações “retas” de fita dupla e, portanto, não formam ligações de hidrogênio umas com as outras. Usando a enzima *DNA-ligase* (veja a p. 406), as terminações adesivas de um fragmento de DNA de interesse podem ser unidas covalentemente a outros fragmentos de DNA, com terminações adesivas produzidas por clivagem com a mesma *endonuclease de restrição* (Figura 33.4). Outra *ligase*, codificada pelo bacteriófago T4, pode unir covalentemente fragmentos com terminações retas.

D. Sítios de restrição

A sequência de DNA reconhecida e clivada pela enzima de restrição é chamada de sítio de restrição. *Endonucleases de restrição* clivam o DNA em fragmentos de diferentes tamanhos. Por exemplo, uma enzima que reconhece uma sequência específica de quatro pares de bases produz vários cortes na molécula de DNA, um a cada 4⁴ pb. Em contraste, uma enzima que necessita de uma sequência única de seis pares de bases produz menos cortes (um a cada 4⁶ pb) e, portanto, fragmentos mais longos. Centenas dessas enzimas, com diferentes especificidades para a clivagem (variando tanto na sequência de nucleotídeos quanto na extensão do sítio de reconhecimento), estão disponíveis comercialmente como reagentes analíticos.

**Figura 33.3**

Especificidade das endonucleases de restrição *TaqI* e *HaeIII*.

III. CLONAGEM DO DNA

A introdução de uma molécula de DNA estranha na célula em divisão permite a clonagem ou amplificação (i. e., a produção de muitas cópias) do DNA. Em alguns casos, um único fragmento de DNA pode ser isolado e purificado antes da clonagem. Mais comumente, para clonar uma sequência de nucleotídeos de interesse, o DNA celular total é primeiramente clivado com uma enzima de restrição específica, criando centenas de milhares de fragmentos. Cada um dos fragmentos de DNA resultantes é unido a uma molécula de vetor de DNA (denominada vetor de clonagem), formando uma molécula híbrida ou recombinante. Cada molécula de DNA recombinante transporta seu fragmento de DNA inserido para uma única célula hospedeira, por exemplo, uma bactéria, onde ele é replicado. (Nota: o processo de introduzir DNA estranho na célula é chamado de transformação para bactérias e fungos e transfecção para eucariotos superiores.) Com a multiplicação da célula hospedeira, forma-se um clone, em que cada bactéria carrega cópias do mesmo fragmento de DNA inserido, daí o termo “clonagem”. O DNA clonado é, por fim, liberado do seu vetor por clivagem (usando a enzima de restrição apropriada) e isolado. Por meio desse mecanismo, muitas cópias idênticas do DNA de interesse podem ser produzidas. (Nota: uma alternativa à clonagem – a reação em cadeia da polimerase – é descrita na p. 479.)

A. Vetores

O vetor é a molécula de DNA em que se liga o fragmento de DNA a ser clonado. As propriedades essenciais de um vetor incluem: 1) ser capaz de replicação autônoma em uma célula hospedeira; 2) conter pelo menos uma sequência específica de nucleotídeos reconhecível por uma *endonuclease de restrição*; e 3) conter pelo menos um gene que lhe confira a capacidade de ser selecionado para vetor, como um gene de resistência a antibiótico. Comumente, os vetores utilizados incluem plasmídeos e vírus.

1. **Plasmídeos procarióticos.** Os organismos procarióticos contêm tipicamente um único cromossomo, grande e circular. Adicionalmente, a maioria das espécies de bactérias normalmente contêm também pequenas moléculas de DNA, circulares e extracromossomais, chamadas de plasmídeos¹ (Figura 33.5). O DNA dos plasmídeos sofre replicação que pode ou não ser sincronizada com a divisão celular. Os plasmídeos podem carregar genes que conferem à bactéria hospedeira resistência a antibióticos, podendo também facilitar a transferência de informação genética de uma bactéria para a outra. Os plasmídeos podem ser isolados prontamente a partir de células bacterianas, com seu DNA circular sendo clivado em sítios específicos por *endonucleases de restrição* e um DNA externo de até 10 quilobases (kb), cortado com a mesma enzima de restrição, sendo inserido. O plasmídeo híbrido (recombinante) pode ser introduzido em uma bactéria, e um grande número de cópias do plasmídeo é produzido. As bactérias são cultivadas na presença de antibióticos, selecionando assim células que contêm o plasmídeo híbrido, que dá resistência a antibióticos (Figura 33.6). (Nota: o experimento é conduzido de modo a favorecer a inserção de apenas um fragmento de DNA em cada plasmídeo e a introdução de apenas um plasmídeo em cada bactéria.)

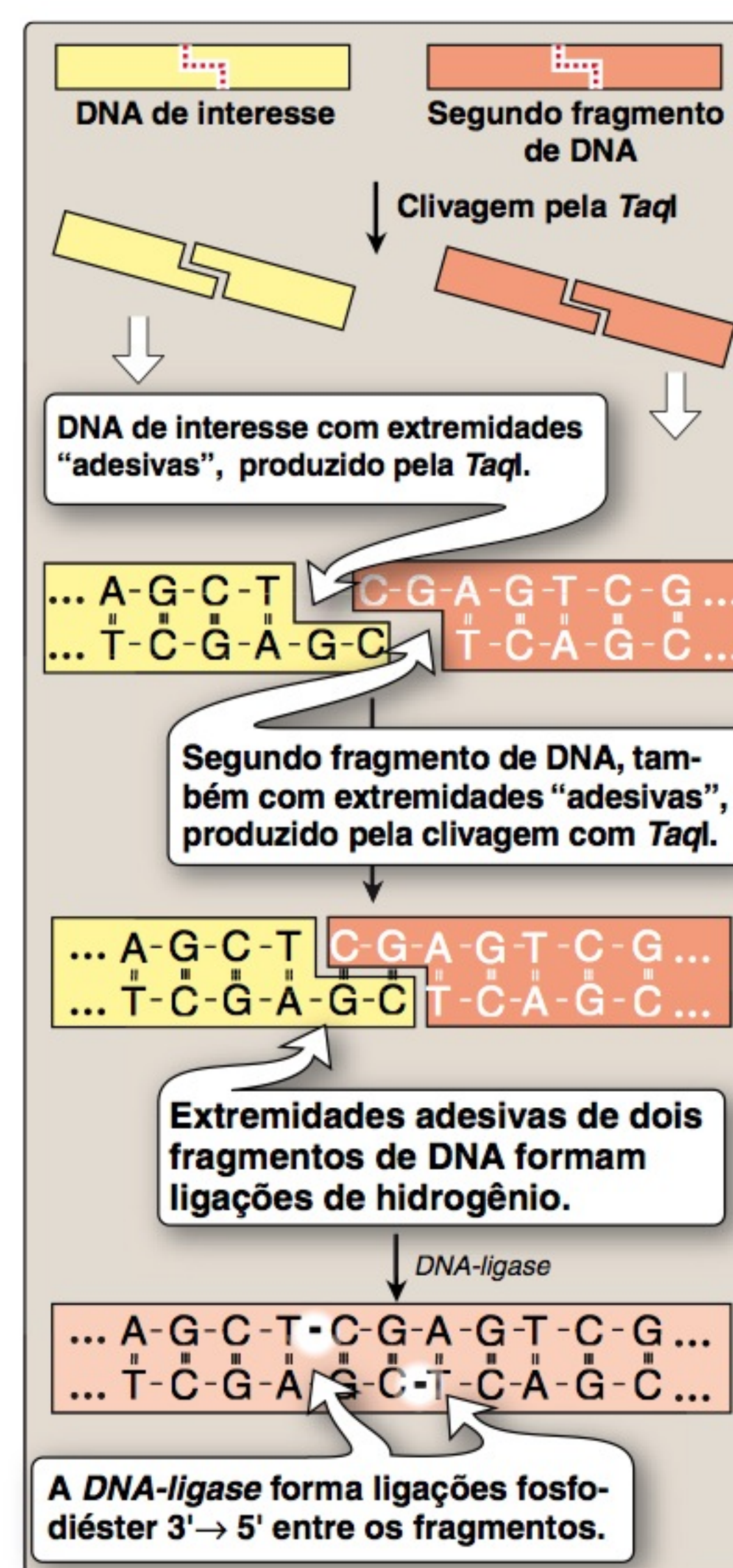


Figura 33.4

Formação de DNA recombinante a partir de fragmentos de restrição com extremidades “adesivas”.

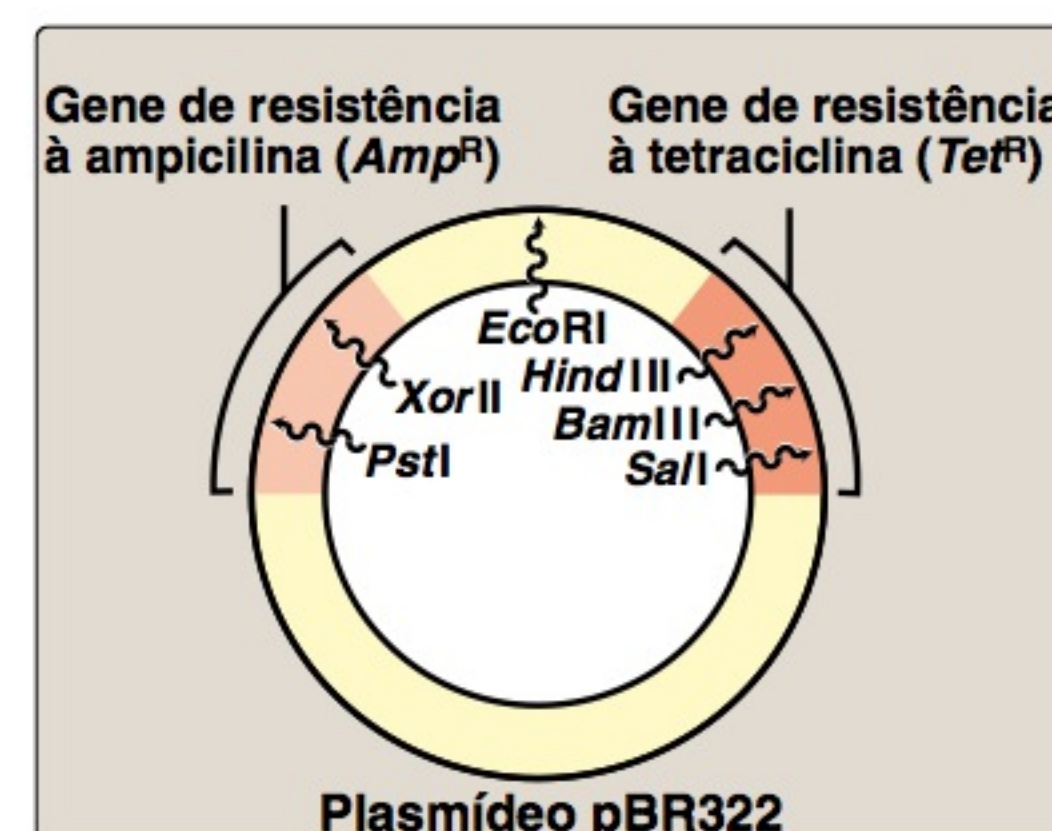
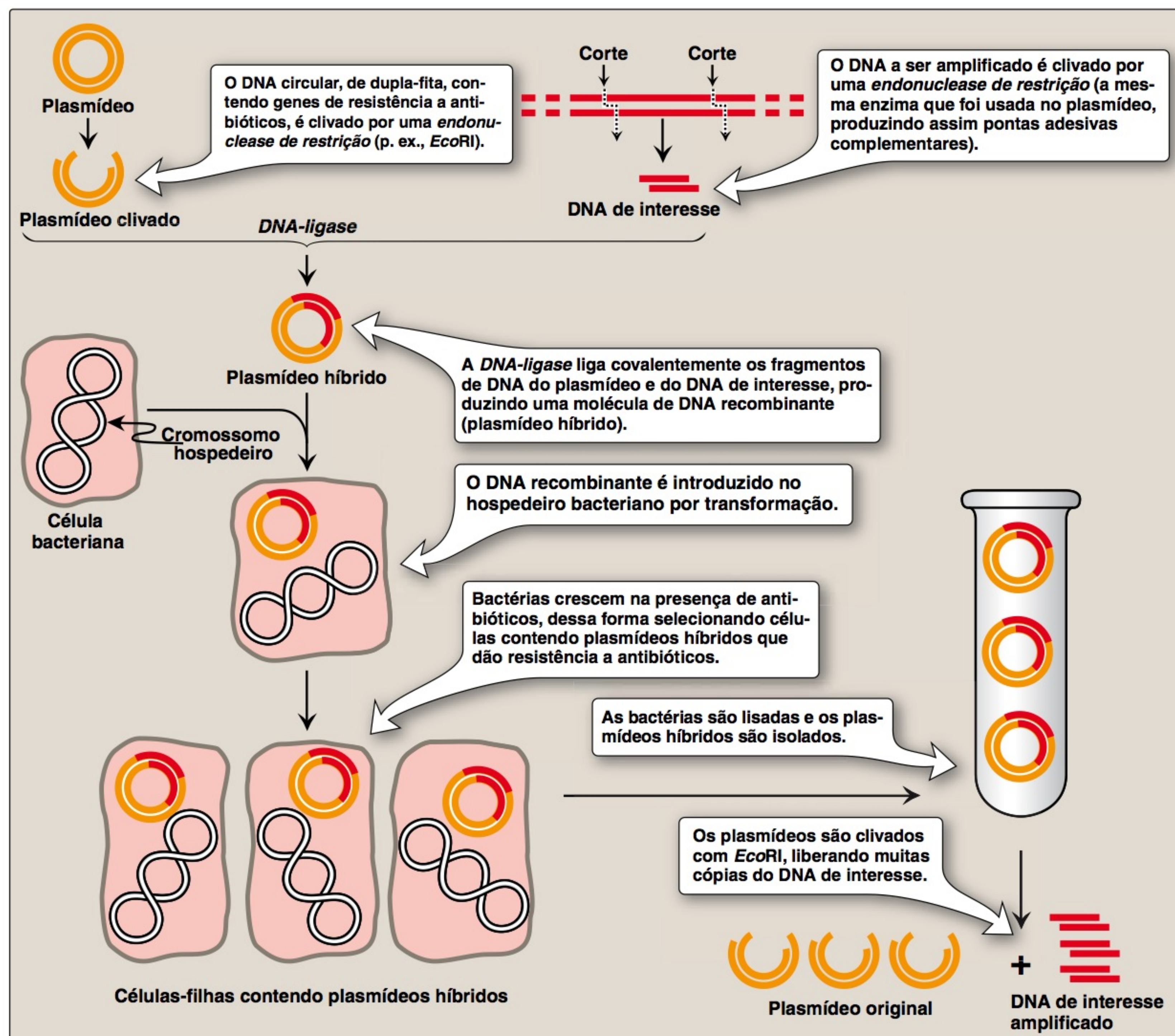


Figura 33.5

Um mapa de restrição do plasmídeo pBR322, indicando as posições dos seus genes de resistência a antibióticos e os sítios de sequências de nucleotídeos reconhecidos por endonucleases de restrição específicas.



¹Veja o Capítulo 7 em **Microbiologia Ilustrada** para uma discussão acerca dos plasmídeos.

**Figura 33.6**

Resumo da clonagem gênica.

2. **Outros vetores.** O desenvolvimento de vetores aperfeiçoados, que possam acomodar com mais eficiência segmentos grandes de DNA, ou expressar os genes “passageiros” a eles ligados em diferentes tipos de células, tem aprimorado a pesquisa em genética molecular. Além dos plasmídeos procarióticos descritos anteriormente, os vírus de ocorrência natural que infectam bactérias (o bacteriófago λ , por exemplo) ou células de mamíferos (os retrovírus, por exemplo) e os construtos artificiais (como cosmídeos e cromossomos artificiais de bactérias – BACs – ou leveduras – YACs) são atualmente bastante utilizados como vetores de clonagem. (Nota: BACs e YACs podem aceitar fragmentos de DNA para inserção de 100-200 kb e 200-500 kb, respectivamente.)

B. Bibliotecas de DNA

Uma biblioteca de DNA genômico é uma coleção de fragmentos de restrição de DNA clonados de um organismo. Dois tipos de bibliotecas são

utilizados em geral: bibliotecas genômicas e bibliotecas de DNA complementar (DNAc). As bibliotecas genômicas contêm idealmente uma cópia de cada sequência nucleotídica de DNA do genoma. Em contraste, as bibliotecas de DNAc contêm aquelas sequências de DNA que aparecem como moléculas de RNAm processado, e estas diferem de um tipo celular para outro. (Nota: DNAc clonados não apresentam íntrons e regiões controladoras dos genes, presentes nas bibliotecas genômicas.)

- 1. Bibliotecas genômicas de DNA.** Uma biblioteca genômica é criada pela digestão do DNA total do organismo por uma *endonuclease de restrição* e subsequente ligação a um vetor apropriado. As moléculas de DNA recombinante são replicadas em uma bactéria hospedeira. Os fragmentos de DNA amplificados representam o genoma inteiro do organismo e são chamados de biblioteca genômica. Independentemente da enzima de restrição utilizada, há boas probabilidades de que genes de interesse contenham mais de um sítio de restrição reconhecido pela enzima. Se esse for o caso, e se a digestão acontecer por completo, o gene de interesse é fragmentado – ou seja, ele não está contido em qualquer clone da biblioteca. Para evitar esse resultado, que em geral não é desejável, uma digestão parcial é realizada, em que a quantidade ou o tempo de ação da enzima são limitados. Isso resulta na clivagem de apenas uma fração dos sítios de restrição em cada uma das moléculas de DNA, produzindo assim fragmentos de cerca de 20.000 pares de bases. Enzimas que clivam com alta frequência (i. e., enzimas que reconhecem sequências de quatro pares de bases) são geralmente usadas para esse propósito, de forma que o resultado é uma coleção quase randômica de fragmentos. Isso garante a alta probabilidade de que o gene de interesse esteja contido, intacto, em algum fragmento.
- 2. Bibliotecas de DNA complementar (DNAc).** Se um gene de interesse é expresso em grandes quantidades em determinado tecido, é provável que o RNAm correspondente a esse gene também esteja presente em altas concentrações nessa célula. Por exemplo, o RNAm em reticulócitos é composto em grande parte por moléculas que codificam as cadeias de hemoglobina α -globina e β -globina. Esse RNAm pode ser utilizado como molde para fazer uma molécula de DNA complementar (DNAc), usando a enzima *transcriptase reversa* (Figura 33.7). (Nota: o RNAm é isolado do RNA transportador [RNAt] e do RNA ribossômico [RNAr] pela presença da sua cauda poli [A.]) O DNAc resultante é uma cópia de fita dupla do RNAm. O DNAc pode ser amplificado por clonagem ou por reação em cadeia da polimerase. Ele pode ser usado como sonda para localizar o gene que codifica o RNAm original (ou fragmentos do gene) em misturas contendo muitos fragmentos de DNA não relacionados. Se o RNAm usado como molde for uma mistura de vários tamanhos diferentes, os DNAc resultantes serão heterogêneos. Essas misturas podem ser clonadas para formar uma biblioteca de DNAc. Como o DNAc não possui sequências não codificadoras (sequências intervenientes, ou íntrons), ele pode ser clonado em um vetor de expressão para a síntese de proteínas eucarióticas por bactérias (Figura 33.8). Esses plasmídeos especiais contêm um promotor bacteriano para a transcrição do DNAc, e uma sequência Shine-Dalgarno (veja a p. 439), que permite ao ribossomo bacteriano iniciar a tradução da molécula de RNAm resultante. (Nota: a insulina humana é produzida em bactérias para fins terapêuticos utilizando essa tecnologia; no entanto, as muitas modificações co e pós-traducionais (veja a p. 443) ne-

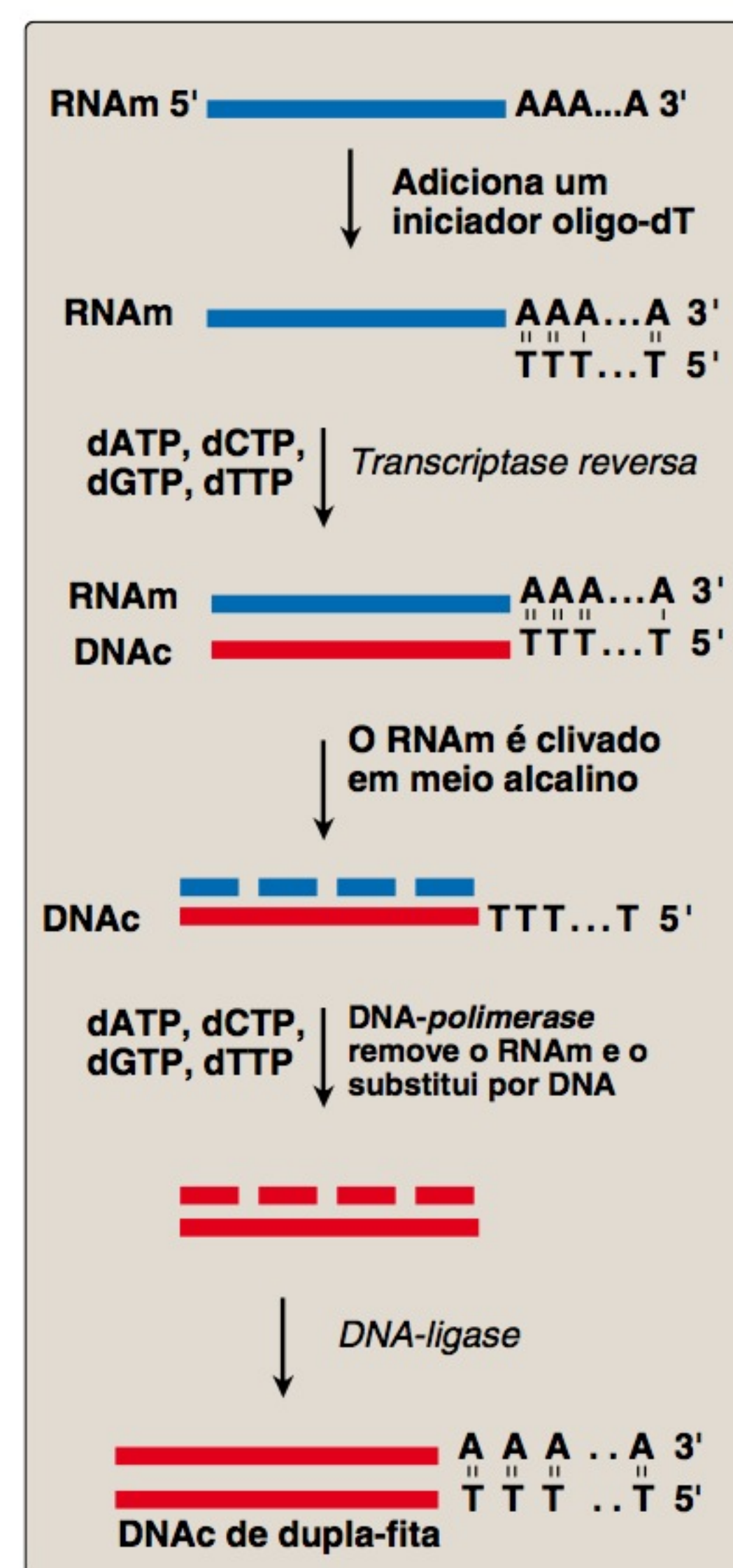
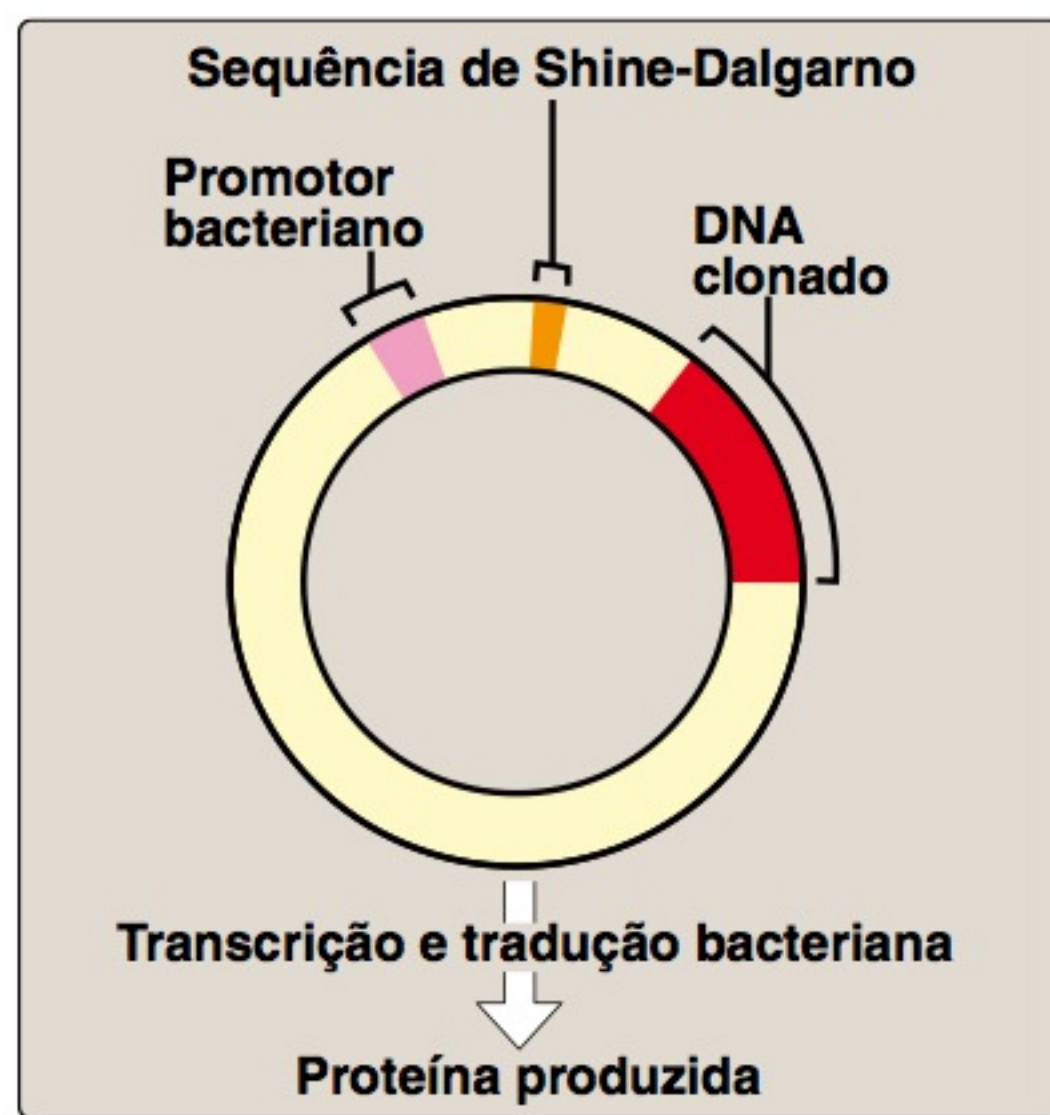


Figura 33.7

Síntese de DNAc a partir de RNAm usando a *transcriptase reversa*. Etapas adicionais (não mostradas) são necessárias para clonar o DNAc.

**Figura 33.8**

Um vetor de expressão.

cessárias para a maioria das outras proteínas humanas necessita da utilização de hospedeiros eucarióticos.)

C. Sequenciamento de fragmentos de DNA clonados

A sequência de bases de fragmentos de DNA clonados pode ser determinada em laboratório. O procedimento original para esse propósito era o método de dideoxi de Sanger, ilustrado na Figura 33.9. O DNA de fita simples a ser sequenciado é usado como molde para a síntese de DNA pela *DNA-polimerase*. Um segmento iniciador radioativo, complementar à extremidade 3' do DNA-alvo, é adicionado, juntamente com os quatro desoxirribonucleosídeos-trifosfato (dNTP). A amostra é dividida em quatro tubos de reação, e uma pequena quantidade de um dos quatro dideoxirribonucleosídeos-trifosfato (ddNTPs) é adicionada a cada tubo. Uma vez que ele não contém o grupo 3'-hidroxila, a incorporação de um ddNTP em uma fita recém-sintetizada encerra sua elongação nesse ponto. Os produtos dessa reação consistem então em uma mistura de fitas de DNA de diferentes comprimentos, cada uma terminando em determinada base. A separação por tamanho dos vários segmentos de DNA produzidos, utilizando eletroforese em gel de poliacrilamida, seguida por autorradiografia, produz um padrão de bandas, a partir do qual pode ser lida a sequência de bases de DNA. (Nota: quanto menor o fragmento, mais ele viaja no gel, com o fragmento menor representando aquele primeiramente produzido, isto é, a extremidade 5'.) O Projeto Genoma Humano utilizou variações altamente automatizadas dessa técnica para determinar a sequência de bases do genoma humano.

IV. SONDAS

A clivagem de uma molécula grande de DNA por endonucleases de restrição produz uma gama desconcertante de fragmentos. Como um gene específico ou uma sequência de DNA de interesse podem ser pinçados de uma mistura de milhares ou até mesmo milhões de irrelevantes fragmentos de DNA? A resposta está na utilização de sondas – um fragmento curto de DNA de fita simples, marcado com um radioisótopo, como ^{32}P , ou com uma molécula não radioativa, como a biotina. A sequência de nucleotídeos de uma sonda é complementar ao DNA de interesse, chamado de DNA-alvo. As sondas são usadas para identificar qual clone de uma biblioteca ou qual banda em um gel contém o DNA-alvo, um processo chamado varredura.

A. Hibridização de uma sonda com fragmentos de DNA

A utilidade das sondas depende do fenômeno da hibridização (ou pareamento), no qual uma sequência de fita simples de DNA-alvo liga-se a uma sonda contendo uma sequência complementar de nucleotídeos. O DNA de fita simples, produzido por desnaturação alcalina a partir de uma fita dupla de DNA, é primeiramente ligado a um suporte sólido, como uma membrana de nitrocelulose. As fitas de DNA imobilizadas são impedidas de fazer autopareamento, mas estão disponíveis para a hibridização a uma sonda de DNA de fita simples, exógena e radiomarcada. A extensão da hibridização é medida pela retenção da radioatividade na membrana. Moléculas de sonda em excesso, que não hibridizam, são removidas pela lavagem do filtro.

B. Sondas sintéticas de oligonucleotídeos

Se a sequência de uma parte ou de todo o DNA-alvo é conhecida, podem ser sintetizadas sondas de oligonucleotídeos de fita simples, de 20 ou 30 nucleotídeos, complementares a uma pequena região do gene de

interesse. Se a sequência do gene não é conhecida, a sequência de aminoácidos da proteína – isto é, o produto do gene – pode ser usada para construir a sonda. Pequenas sequências de DNA de fita simples (15 a 30 nucleotídeos) são sintetizadas, utilizando o código genético como guia. Por causa da degeneração do código genético, é necessário sintetizar vários oligonucleotídeos. (Nota: os oligonucleotídeos podem ser utilizados para detectar mudanças em uma única base na sequência à qual eles são complementares. Em contraste, as sondas de DNA contêm muitos milhares de bases, e sua ligação a um DNA-alvo com uma única mudança de base não é afetada.)

1. Detectando as mutações na β^s -globina. A Figura 33.10 mostra como uma sonda oligonucleotídica alelo-específica (ASO) pode ser usada para detectar a presença da mutação da anemia falciforme no gene da β^s -globina. O DNA, isolado de leucócitos e amplificado, é desnaturado, produzindo fitas simples, e aplicado a um filtro. Uma sonda oligonucleotídica radiomarcada, complementar à mutação pontual na posição seis (GAG $\rightarrow$ GTG; glutamato $\rightarrow$ valina) do gene de pacientes com a globina mutante β^s , é aplicada ao filtro. O DNA isolado de um indivíduo heterozigoto (traço falcêmico) ou de um paciente homozigoto (anemia falciforme) contém uma sequência de nucleotídeos complementar à sonda. Assim, forma-se um híbrido de

- 1** DNA de fita simples de sequência desconhecida é usado como molde.
- 2** Adição do iniciador e da DNA-polimerase + dATP, dGTP, dCTP, dTTP.
- 3** Divide-se a amostra em quatro tubos, sendo adicionado a cada um deles um dos quatro didesoxinucleotídeos.
- 4** A síntese ocorre até o didesoxinucleotídeo ser incorporado na fita de DNA. O DNA terminando em um didesoxinucleotídeo não pode ser alongado porque falta uma extremidade 3'-OH, que é necessária para a formação da ligação fosfodiéster 3' $\rightarrow$ 5'.

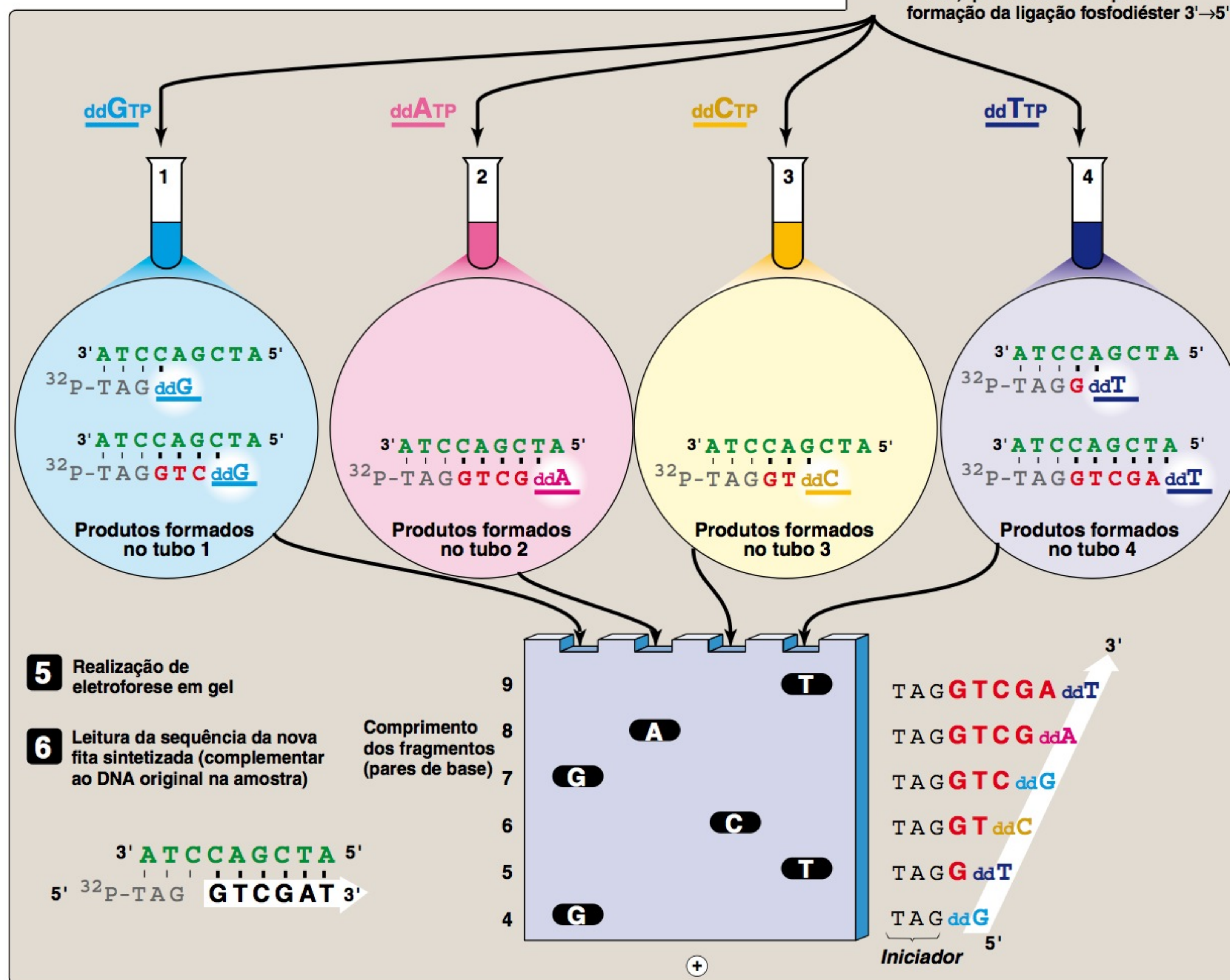
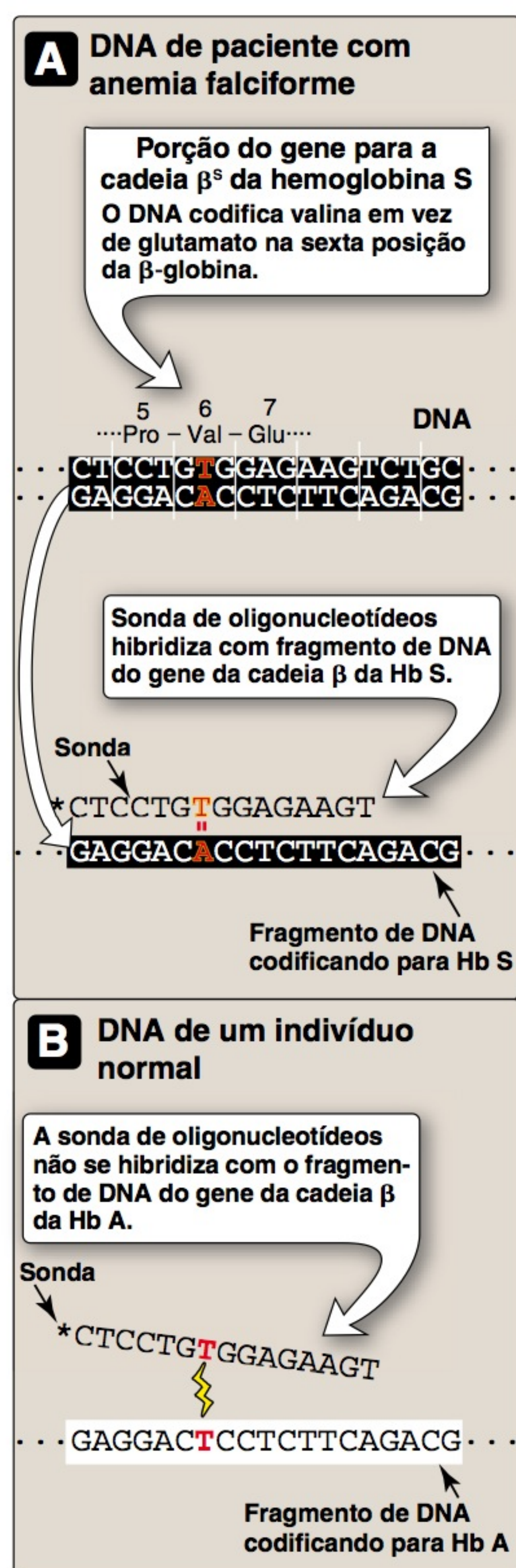


Figura 33.9

Sequenciamento de DNA pelo método dideoxi de Sanger.

**Figura 33.10**

A sonda de oligonucleotídeos alelo-específica detecta um alelo para hemoglobina (Hb) S. (Nota: * indica marcação radioativa com ^{32}P .)

fita dupla que pode ser detectado por eletroforese. Em contraste, o DNA obtido de indivíduos normais não é complementar no sexto triplete de nucleotídeos e, dessa forma, não forma um híbrido (veja a Figura 33.10). O uso de um par de ASOs (um específico para o alelo normal e outro específico para o alelo mutante) permite distinguir o DNA dos três genótipos possíveis – homozigoto normal, heterozigoto e homozigoto mutante (Figura 33.11). (Nota: as sondas ASO são úteis apenas quando são conhecidas a mutação e sua localização.)

C. Sondas biotiniladas

Uma vez que o descarte de lixo radioativo está se tornando cada vez mais caro, sondas não radioativas têm sido desenvolvidas. Uma das mais bem sucedidas é baseada na vitamina biotina (veja a p. 381), que pode ser quimicamente ligada a nucleotídeos usados para sintetizar a sonda. A biotina foi escolhida porque se liga fortemente à avidina – proteína facilmente disponível, encontrada na clara de ovo. A avidina pode ser ligada a um corante fluorescente, detectável opticamente com grande sensibilidade. Desse modo, um fragmento de DNA (obtido, por exemplo, por eletroforese em gel) que hibridiza com a sonda biotinilada pode tornar-se visível ao mergulharmos o gel em solução de corante ligado à avidina. Após a lavagem do excesso de avidina, o fragmento de DNA que se liga à sonda fica fluorescente. (Nota: sondas fluorescentes permitem a detecção e localização de sequências de DNA [ou de RNAm] em células ou preparações de tecido, um processo denominado hibridização *in situ*.)

D. Anticorpos

Certas vezes, nenhuma informação sobre a sequência de aminoácidos encontra-se disponível para orientar a síntese da sonda para uma detecção direta do DNA de interesse. Nesse caso, o gene pode ser identificado indiretamente, por clonagem do DNAC em um vetor de expressão. Esse vetor permite a transcrição e a tradução do DNAC clonado. Um anticorpo marcado é utilizado para identificar qual colônia bacteriana produz a proteína e, portanto, contém o DNAC de interesse. (Nota: uma biblioteca criada usando vetores de expressão é chamada de biblioteca de expressão.)

A tecnologia do DNA recombinante permitiu a produção, em sistemas não humanos, de enzimas humanas modificadas para alcançar adequadamente o alvo, os lisossomos. Tais terapias de reposição enzimática recombinante são utilizadas no tratamento de doenças lisossômicas de depósito, como Pompe, Gaucher e Hurler.

V. TRANSFERÊNCIA DE SOUTHERN

A transferência de Southern (Southern *blotting*) é uma técnica que pode detectar mutações no DNA. Ela combina o uso de enzimas de restrição, eletroforese e sondas de DNA.

A. Procedimento experimental

Esse método, assim designado em homenagem a seu inventor, Edward Southern, envolve os passos descritos a seguir (Figura 33.12). Em primeiro lugar, o DNA é extraído das células, por exemplo, de leucócitos

de um paciente. O segundo passo é clivar o DNA em muitos fragmentos, usando uma enzima de restrição. Em uma terceira etapa, os fragmentos resultantes são separados com base no tamanho, por eletroforese. (Nota: os fragmentos maiores se movem mais lentamente que os fragmentos menores. Dessa forma, o tamanho dos fragmentos, geralmente expressos como o número de pares de bases, pode ser calculado pela comparação da posição da banda em relação a fragmentos padrão, de tamanho conhecido.) Os fragmentos de DNA no gel são desnaturados e transferidos para uma membrana de nitrocelulose, para análise. Se o DNA original representa o genoma completo do indivíduo, o digesto enzimático contém um milhão ou mais de fragmentos. O gene de interesse está em somente um desses fragmentos (ou em poucos, caso o próprio gene tenha sido fragmentado) de DNA. Se todos os segmentos de DNA fossem visualizados por uma técnica não específica, sua aparência seria a de um borrão de bandas sobrepostas. Para evitar esse problema, o último passo na transferência de Southern usa uma sonda para identificar os fragmentos de DNA de interesse. Os padrões observados na análise de transferência de Southern dependem tanto da *endonuclease de restrição* específica quanto da sonda utilizada para visualizar os fragmentos de restrição. (Nota: variantes da transferência de Southern têm sido denominadas, de forma jocosa, de “Northern” [eletroforese de RNA seguida de hibridização com uma sonda específica] e “Western” [eletroforese de proteínas seguida pela detecção com um anticorpo direcionado contra a proteína de interesse]. Essas denominações não têm relação com o nome dos inventores das técnicas, nem com pontos cardeais.)

B. Detecção de mutações

A transferência de Southern pode detectar mutações no DNA, como a inserção ou a deleção de nucleotídeos. Ela também pode detectar mutações pontuais (substituição de um nucleotídeo por outro, veja a p. 433), que causam a perda ou o ganho de sítios de clivagem por enzimas de restrição. Tais mutações determinam um padrão de bandas diferente daquele observado com um gene normal. Fragmentos maiores são gerados se o sítio de restrição é perdido. Por exemplo, na Figura 33.12, o indivíduo número 2 não apresenta um sítio de restrição presente no indivíduo número 1. Alternativamente, a mudança em um único nucleotídeo pode criar um novo sítio de clivagem, que resulta em fragmentos mais curtos. (Nota: a maioria das diferenças nas sequências dos sítios de restrição representa variações normais presentes no DNA.)

VI. POLIMORFISMO DE COMPRIMENTO DO FRAGMENTO DE RESTRIÇÃO

Variações no genoma são diferenças na sequência do DNA entre indivíduos. Tem sido calculado que os genomas de pessoas que não sejam parentes diferem em cerca de 1 a cada 1.200 bases de DNA, ou cerca de 0,1% do genoma. Essas variações do genoma incluem tanto polimorfismos quanto mutações. O termo mutação se refere a uma variação pouco frequente no genoma, mas potencialmente danosa, associada a uma determinada doença humana. Um polimorfismo, por sua vez, é uma variação do DNA sem dano clínico, que não afeta o fenótipo. Um polimorfismo é tradicionalmente definido como uma variação na sequência de nucleotídeos de um dado locus (alelo), que ocorre em mais de 1% da população. Polimorfismos em geral ocorrem em regiões do genoma que não codificam proteínas, ou seja, sequências intervenientes (de íntrons) e regiões intergênicas. (Nota: somente uma pequena porcentagem do genoma humano – menos de 2% – codifica, de fato, proteínas.) O polimorfismo de

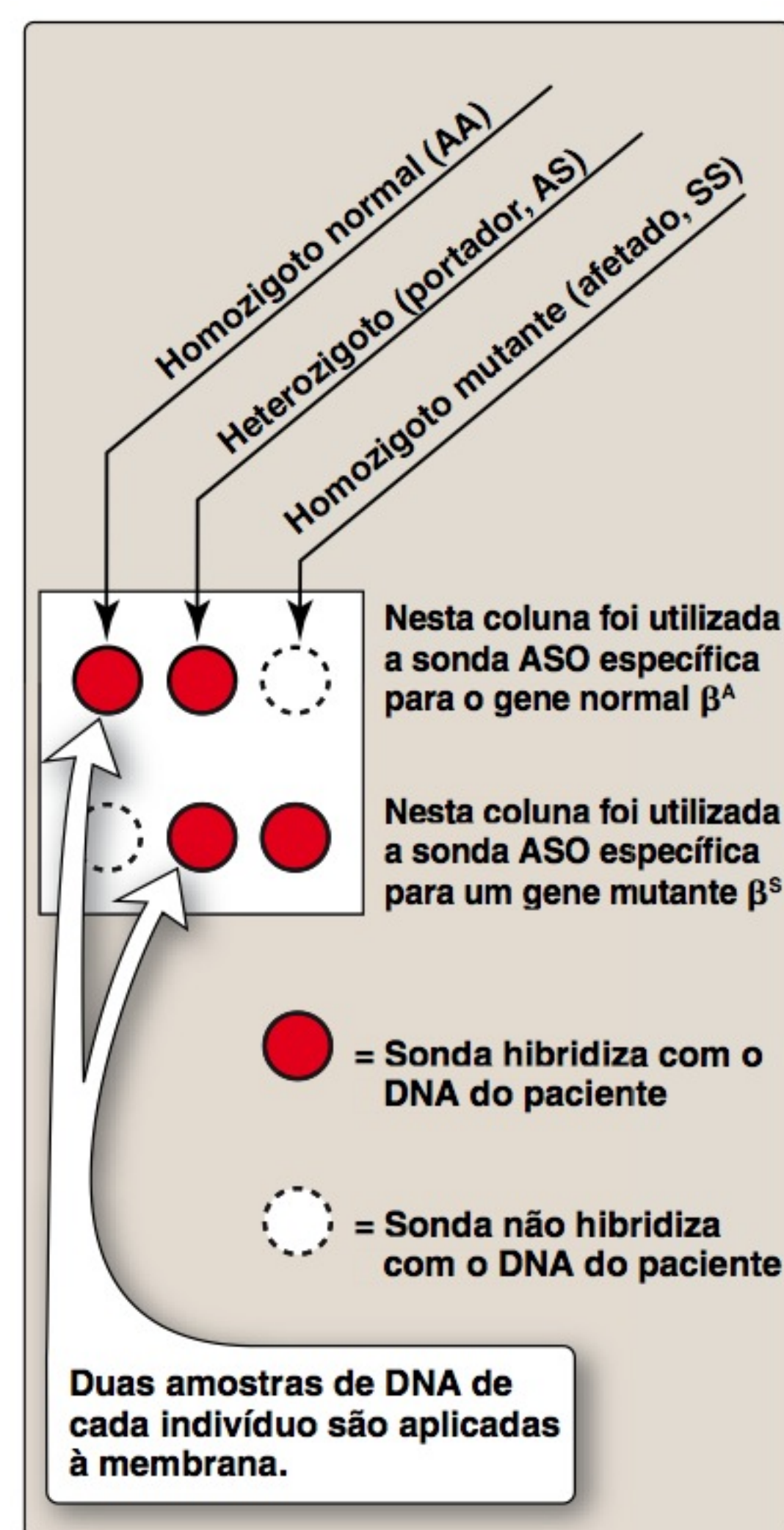


Figura 33.11

Sondas alelo-específicas de oligonucleotídeos (ASO) utilizadas para detectar a mutação da anemia falciforme e diferenciar entre traço falcêmico e doença.

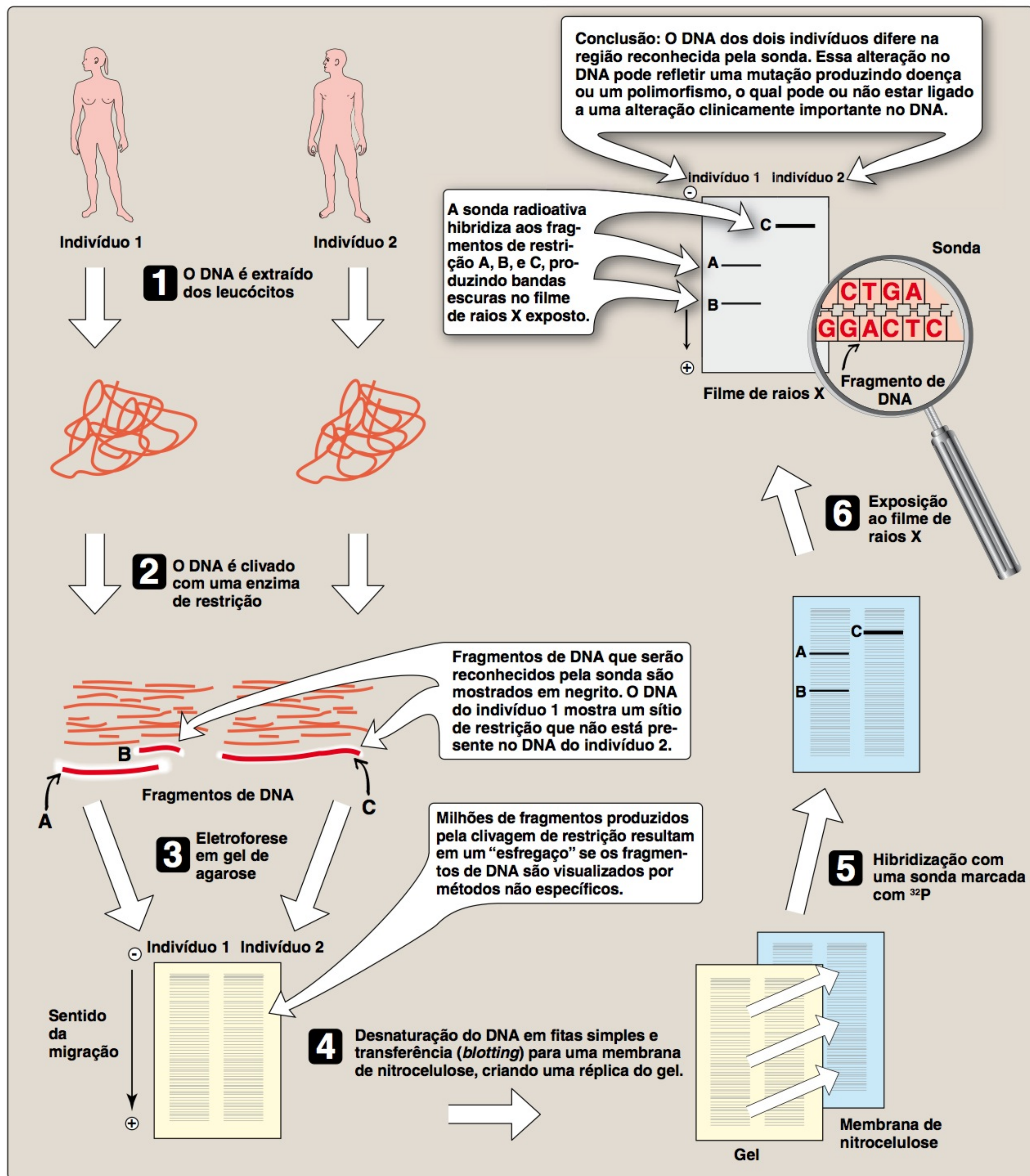


Figura 33.12

Procedimento de transferência de Southern.

comprimento do fragmento de restrição (RFLP, de *restriction fragment length polymorphism*) é uma variação genética que pode ser observada pela clivagem do DNA em fragmentos (fragmentos de restrição) com uma enzima de restrição. O comprimento dos fragmentos de restrição é alterado se a variação genética altera o DNA de forma a criar ou abolir um sítio de clivagem dessa *endonuclease de restrição* (um sítio de restrição). RFLP podem ser usados para detectar variações genéticas em humanos, por exemplo, em casais que planejam ter filhos ou em tecido fetal.

A. Variações no DNA resultando em RFLP

Dois tipos de variações no DNA comumente resultam em RFLP: mudanças de uma única base na sequência de nucleotídeos e repetições em *tandem* de sequências de DNA.

1. **Mudanças em uma única base no DNA.** Cerca de 90% das variações do genoma humano ocorrem na forma de polimorfismos de nucleotídeo único, ou SNP (de *single nucleotide polymorphism*, chamados “snips”). Essas são variações que envolvem somente uma base (Figura 33.13). A alteração de um nucleotídeo em um sítio de restrição pode levar o sítio a não ser reconhecido por uma determinada *endonuclease de restrição*. Um novo sítio de restrição pode também ser criado pelo mesmo mecanismo. Em qualquer dos casos, a clivagem com uma *endonuclease* resulta em fragmentos de tamanhos diferentes do normal, que podem ser detectados pela hibridização do DNA (veja a Figura 33.12). (Nota: o sítio de restrição alterado pode estar no sítio de uma mutação causadora de doença – que é raro – ou em um sítio a alguma distância da mutação; veja a p. 477.)
2. **Repetições em *tandem*.** Alternativamente, polimorfismos no DNA cromossômico podem originar-se da presença de um número variável de repetições em *tandem* (VNTR, de *variable number of tandem repeats*, veja a Figura 33.14), que são pequenas sequências de DNA em localizações dispersas no genoma, repetidas em *tandem* (uma após a outra, como vagões em um trem). O número dessas unidades de repetição varia de pessoa para pessoa e é único para cada indivíduo. Assim, serve como uma impressão digital molecular. A clivagem por enzimas de restrição leva a fragmentos de tamanho variável, dependendo de quantos desses segmentos repetidos estão contidos nos fragmentos. Variações no número de repetições em *tandem* podem levar a polimorfismos (Figura 33.14). Muitos sítios diferentes de VNTR têm sido identificados e são extremamente úteis para a análise de impressões digitais de DNA, como em casos de medicina forense e de identificação de paternidade. É importante enfatizar que esses polimorfismos, tanto SNP quanto VNTR, são simplesmente marcadores: na maioria dos casos, não têm efeito na estrutura, na função ou na taxa de produção de qualquer proteína em particular. (Nota: microssatélites são um tipo de VNTR.)

B. Traçando cromossomos de pais para filhos

Se o DNA de um indivíduo ganhou um sítio de restrição por meio de substituição de base, então a clivagem enzimática leva a pelo menos um fragmento adicional. Por outro lado, se a mutação resulta na perda de um sítio de restrição, menos fragmentos são produzidos pela clivagem enzimática. Um indivíduo heterozigoto para um polimorfismo apresenta variação na sequência de DNA de um cromossomo e não no DNA do cromossomo homólogo. Em tais indivíduos, cada cromossomo pode ser traçado dos pais até os filhos pela determinação da presença ou da ausência do polimorfismo.

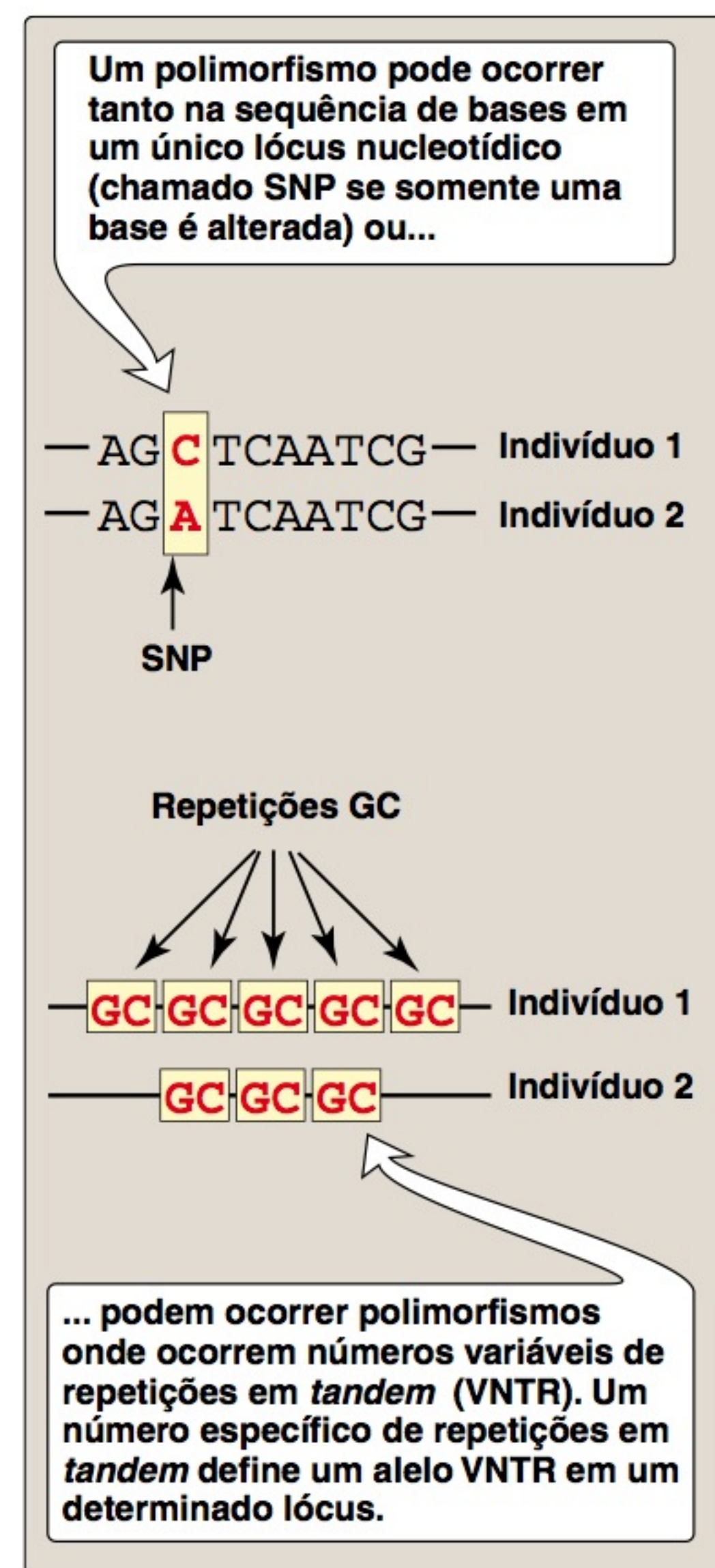


Figura 33.13

Formas comuns de polimorfismo genético. SNP = polimorfismo de nucleotídeo único.

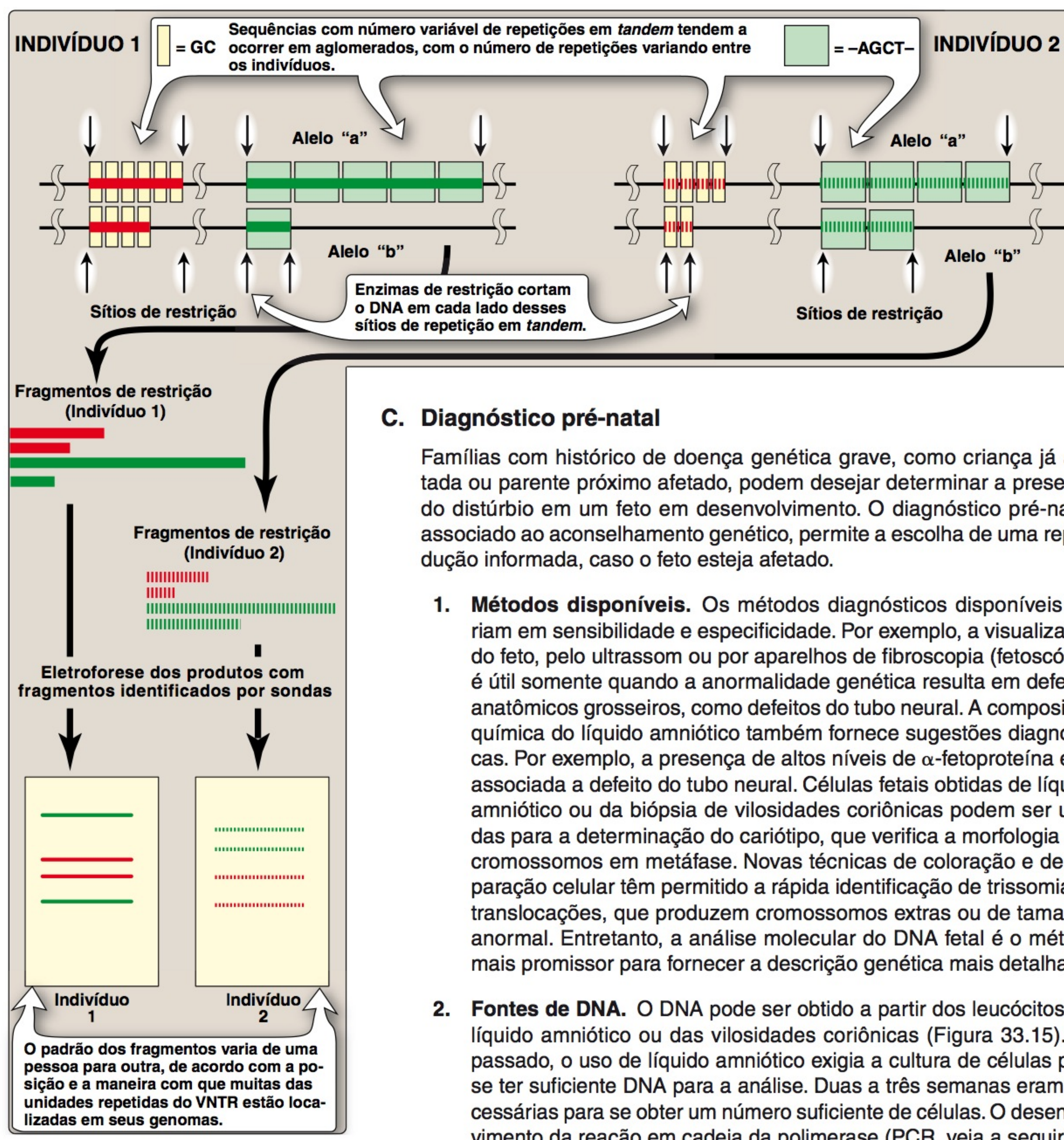


Figura 33.14

Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP) de números variáveis de repetições em *tandem* (VNTR). Para cada indivíduo, um par de cromossomos homólogos é mostrado.

C. Diagnóstico pré-natal

Famílias com histórico de doença genética grave, como criança já afetada ou parente próximo afetado, podem desejar determinar a presença do distúrbio em um feto em desenvolvimento. O diagnóstico pré-natal, associado ao aconselhamento genético, permite a escolha de uma reprodução informada, caso o feto esteja afetado.

1. **Métodos disponíveis.** Os métodos diagnósticos disponíveis variam em sensibilidade e especificidade. Por exemplo, a visualização do feto, pelo ultrassom ou por aparelhos de fibroscopia (fetoscópio) é útil somente quando a anormalidade genética resulta em defeitos anatômicos grosseiros, como defeitos do tubo neural. A composição química do líquido amniótico também fornece sugestões diagnósticas. Por exemplo, a presença de altos níveis de α -fetoproteína está associada a defeito do tubo neural. Células fetais obtidas de líquido amniótico ou da biópsia de vilosidades coriônicas podem ser usadas para a determinação do cariótipo, que verifica a morfologia dos cromossomos em metáfase. Novas técnicas de coloração e de separação celular têm permitido a rápida identificação de trissomias e translocações, que produzem cromossomos extras ou de tamanho anormal. Entretanto, a análise molecular do DNA fetal é o método mais promissor para fornecer a descrição genética mais detalhada.
2. **Fontes de DNA.** O DNA pode ser obtido a partir dos leucócitos, do líquido amniótico ou das vilosidades coriônicas (Figura 33.15). No passado, o uso de líquido amniótico exigia a cultura de células para se ter suficiente DNA para a análise. Duas a três semanas eram necessárias para se obter um número suficiente de células. O desenvolvimento da reação em cadeia da polimerase (PCR, veja a seguir) diminuiu significativamente o tempo necessário para a análise do DNA.
3. **Diagnóstico direto de anemia falciforme usando RFLP.** As doenças genéticas da hemoglobina são as doenças genéticas mais comuns em humanos. No caso da anemia falciforme (Figura 33.16), a mutação responsável pela doença é apenas uma, também responsável pelo polimorfismo. A detecção direta do RFLP de doenças que resultam de mutações pontuais é atualmente limitada a poucas doenças genéticas.
 - a. **Primeiros esforços para diagnosticar a anemia falciforme.** No passado, o diagnóstico pré-natal das hemoglobinopatias envolvia a determinação da quantidade e dos tipos de hemoglobina (Hb) sintetizadas nos eritrócitos obtidos do sangue fetal. Por

exemplo, a presença da HbS em hemolisados indicava anemia falciforme. Entretanto, procedimentos invasivos para obter sangue fetal implicam alta taxa de mortalidade (cerca de 5%) e o diagnóstico não pode ser realizado até o final do segundo trimestre da gestação, quando a HbS começa a ser produzida.

- b. Análise de RFLP.** A anemia falciforme é um exemplo de doença genética causada por mutação pontual (veja a p. 35). A sequência alterada pela mutação abole o sítio de reconhecimento da *endonuclease de restrição MstII*, que reconhece a sequência nucleotídica CCTNAGG (onde N é qualquer nucleotídeo, veja a Figura 33.16). Assim, a mutação de A para T em um códon do gene da β^s -globina elimina o sítio de clivagem para essa enzima. O DNA normal digerido com *MstII* produz um fragmento de 1,15 kb, ao passo que um fragmento de 1,35 kb é gerado do gene β^s , devido à perda de um sítio de clivagem para *MstII*. Técnicas diagnósticas para analisar o DNA fetal (de células amnióticas ou de amostra de vilosidades coriônicas), em vez de sangue fetal, têm se mostrado valiosas, porque fornecem uma detecção segura e precoce da anemia falciforme, assim como de outras doenças genéticas. (Nota: doenças genéticas causadas por inserção ou deleção de nucleotídeos entre dois sítios de restrição não resultam em criação ou perda de sítios de clivagem, porém também podem apresentar RFLP.)

4. Diagnóstico pré-natal indireto de fenilcetonúria usando RFLP.

O gene da *fenilalanina-hidroxilase (PAH)*, deficiente na fenilcetonúria (PKU, veja a p. 270), está localizado no cromossomo 12. Ele abrange cerca de 90 kb de DNA genômico e contém 13 éxons, separados por íntrons (Figura 33.17; veja a p. 426 para uma descrição dos éxons e íntrons). Mutações nesse gene geralmente não afetam diretamente nenhum sítio de reconhecimento de *endonucleases de restrição*. Para estabelecer um protocolo diagnóstico para essa doença genética, deve-se analisar o DNA dos membros da família de um indivíduo afetado. A chave é identificar marcadores (RFLP) fortemente ligados ao traço da doença. Tão logo esses marcadores tenham sido identificados, a análise de RFLP pode ser utilizada para realizar o diagnóstico pré-natal.

- a. Identificação do gene.** Pode-se determinar a presença de um gene mutante por meio da identificação de polimorfismos marcadores se duas condições são satisfeitas. Primeiro, se o polimorfismo é bastante ligado à mutação que causa a doença, o gene defeituoso pode ser rastreado pela detecção do RFLP. Por exemplo, se o DNA de uma família carregando um gene produtor de doença for examinado por meio da clivagem de restrição e da transferência de Southern, algumas vezes é possível encontrar um RFLP consistentemente associado ao gene produtor da doença (i. e., há uma ligação forte e são co-herdados). Nesse caso, é possível rastrear a herança do DNA produtor da doença em uma família sem o conhecimento da natureza do defeito genético ou a sua localização precisa no genoma. (Nota: o polimorfismo pode ser previamente conhecido em decorrência de estudo de outras famílias com a doença ou pode demonstrar ser exclusivo na família sob investigação.) Segundo, para doenças autossômicas recessivas, a presença de um indivíduo afetado na família auxiliaria no diagnóstico. Esse indivíduo apresentaria a mutação em ambos os cromossomos, permitindo a identificação do RFLP associado à doença genética.

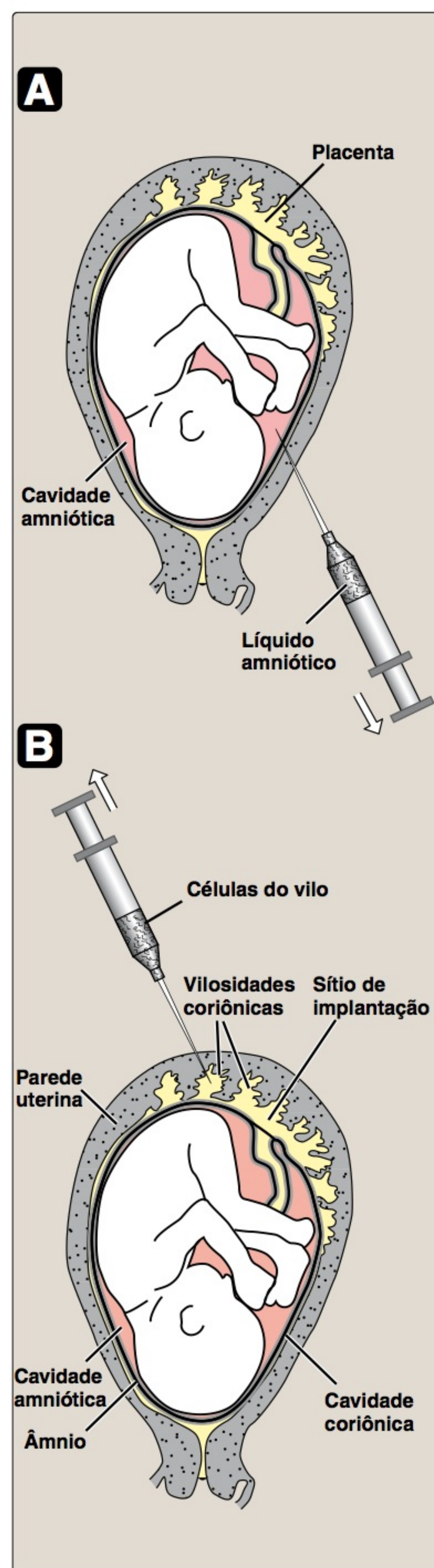


Figura 33.15

Amostra de células fetais. A. Líquido amniótico. B. Vilosidade coriônica.

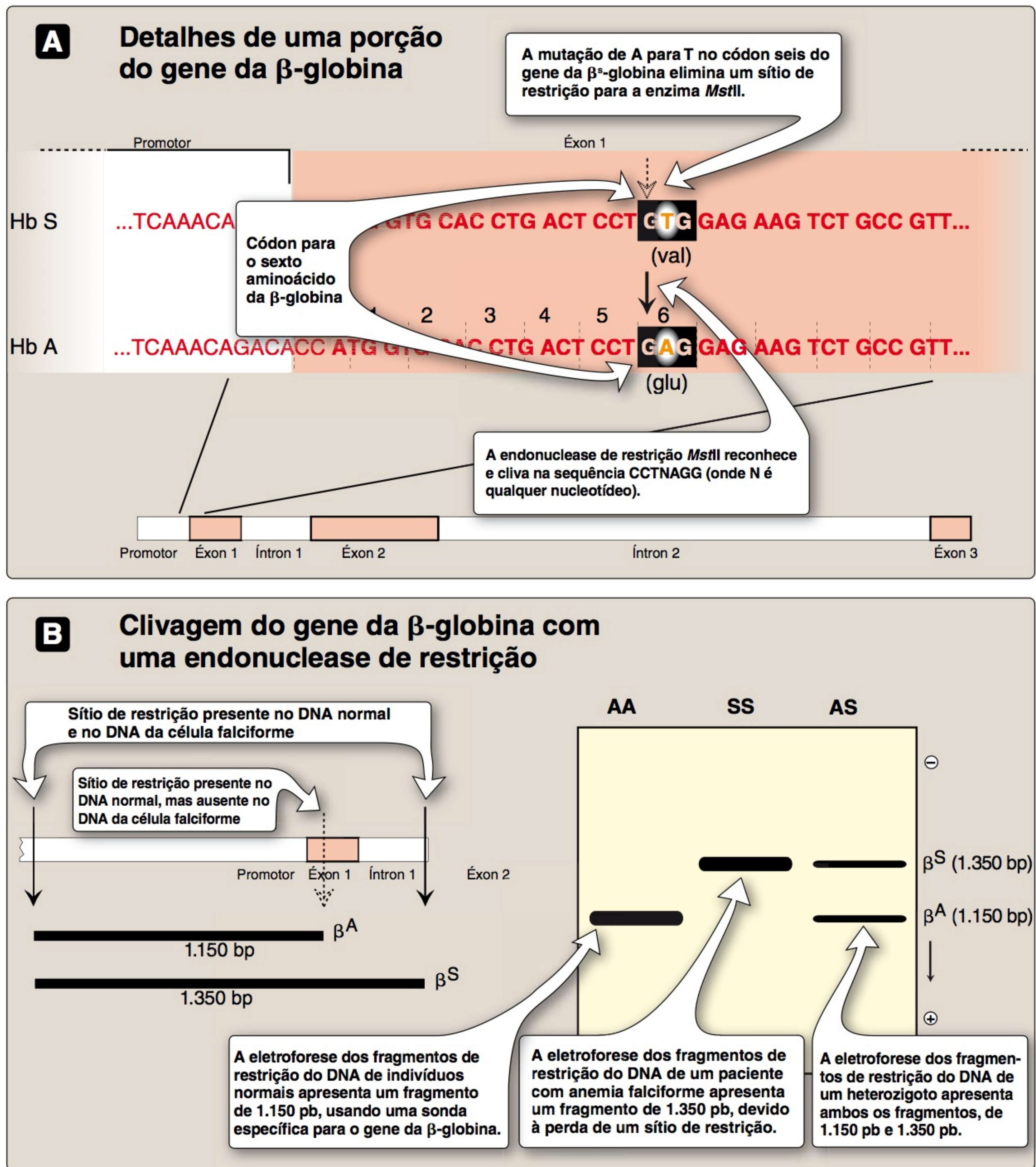


Figura 33.16

Detecção da mutação da β^S -globina. pb = pares de bases. Hb = hemoglobina.

- b. Análise de RFLP.** A presença de genes *PAH* anormais pode ser demonstrada utilizando-se polimorfismos de DNA como marcadores para distinguir entre genes normais e genes mutantes. Por exemplo, a Figura 33.18 mostra o padrão típico, obtido quando o DNA de leucócitos de uma família é clivado com enzima de restrição apropriada e submetido à eletroforese. As setas verticais representam os sítios de clivagem para a enzima de restrição utilizada. A presença de um sítio de polimorfismo (veja na página 473 uma discussão sobre polimorfismos) cria um fragmento “b” no autorradiograma (após a hibridização com uma sonda *PAH*-DNA marcada), ao passo que a ausência desse sítio fornece somente um fragmento “a”. A análise do indivíduo II-2 demonstra que o polimorfismo, conforme evidenciado pela presença do fragmento “b”, está associado ao gene mutante. Dessa forma, nessa família em particular, o aparecimento do fragmento “b” corresponde à presença de um sítio polimórfico que marca o gene *PAH* anormal. A ausência do fragmento “b” corresponde à presença do gene normal apenas. Na Figura 33.18, o exame do DNA fetal mostra que o feto herdou dois genes anormais de seus pais e, por isso, apresenta fenilcetonúria (PKU).
- c. O valor da triagem.** A triagem com base no DNA é útil não somente para determinar se um feto está afetado, mas também para detectar portadores do gene com a mutação. A PKU, como muitos outros erros inatos do metabolismo dos aminoácidos, é herdada na forma de traço autossômico recessivo. A identificação de heterozigotos pode ajudar no planejamento familiar futuro.

VII. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

A reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) é um método para amplificar sequências selecionadas de DNA, que não se baseia no método de clonagem biológica descrito na página 467. A PCR permite a síntese, em poucas horas, de milhões de cópias de uma sequência específica de nucleotídeos. Ela pode amplificar a sequência, mesmo quando a sequência-alvo representa menos de uma parte em um milhão da amostra inicial total. Esse método pode ser utilizado para amplificar sequências de DNA de qualquer fonte – bactérias, vírus, plantas ou animais. Os passos da PCR estão resumidos nas Figuras 33.19 e 33.20.

A. Passos da PCR

A PCR usa a *DNA-polimerase* para amplificar repetitivamente as porções-alvo do DNA. Cada ciclo de amplificação dobra a quantidade de DNA na amostra, levando ao aumento exponencial do DNA com ciclos repetidos de amplificação. A sequência de DNA amplificado pode então ser analisada por eletroforese em gel, transferência de Southern ou determinação sequencial direta.

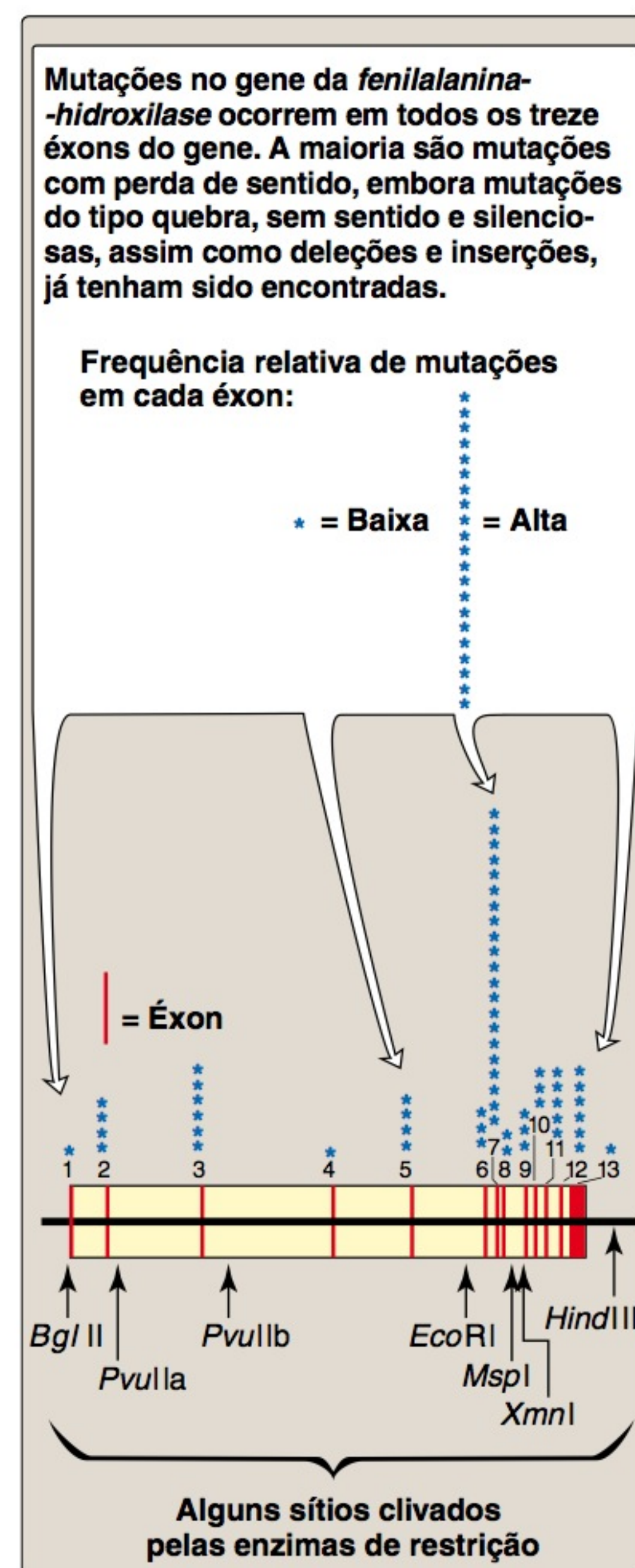


Figura 33.17

O gene da *fenilalanina-hidroxilase*, apresentando 13 éxons, os sítios de restrição e algumas das mutações que resultam em fenilcetonúria.

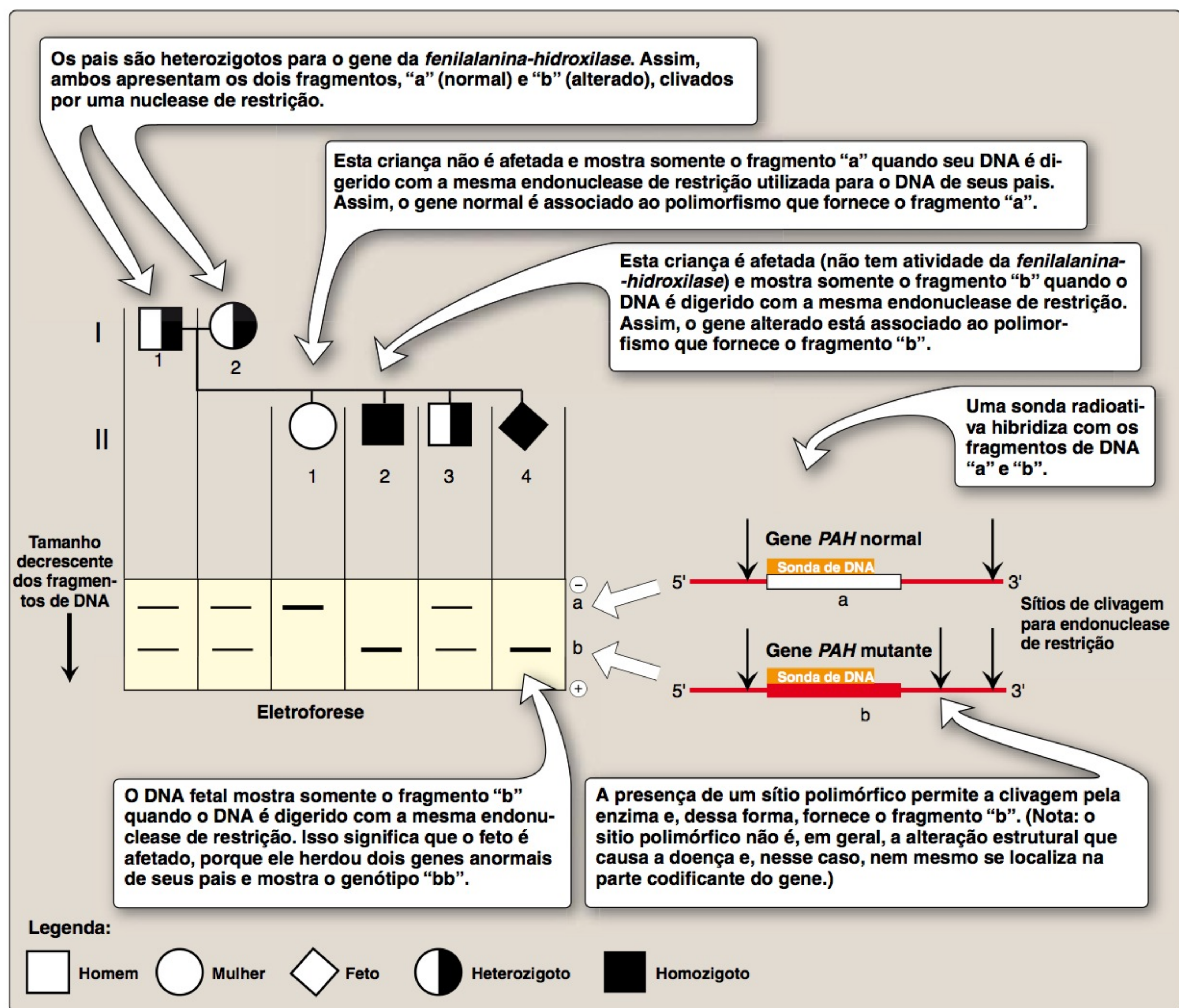


Figura 33.18

Análise de polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição em uma família com uma criança afetada por fenilcetonúria. Não se sabe qual o defeito molecular no gene da fenilalanina-hidroxilase (PAH) na família. A família quer saber se a gestação em progresso será afetada por fenilcetonúria.

1. **Construção do iniciador (*primer*).** No método da PCR, não é necessário saber a sequência de nucleotídeos do DNA-alvo. Entretanto, é necessário saber a sequência de nucleotídeos de pequenos segmentos de cada lado do DNA-alvo. Esses segmentos, chamados de sequências flanqueadoras, delimitam a sequência de DNA de interesse. As sequências de nucleotídeos das regiões flanqueadoras são usadas para construir dois oligonucleotídeos de fita simples, geralmente com 20 a 35 nucleotídeos, complementares às respectivas sequências flanqueadoras. A extremidade 3'-hidroxila de cada oligonucleotídeo aponta em direção à sequência-alvo (veja a Figura 33.19). Esses oligonucleotídeos sintéticos funcionam como iniciadores (*primers*) na reação da PCR.
2. **Desnaturação do DNA.** O DNA a ser amplificado é aquecido a fim de separar o DNA-alvo de fita dupla em fitas simples.

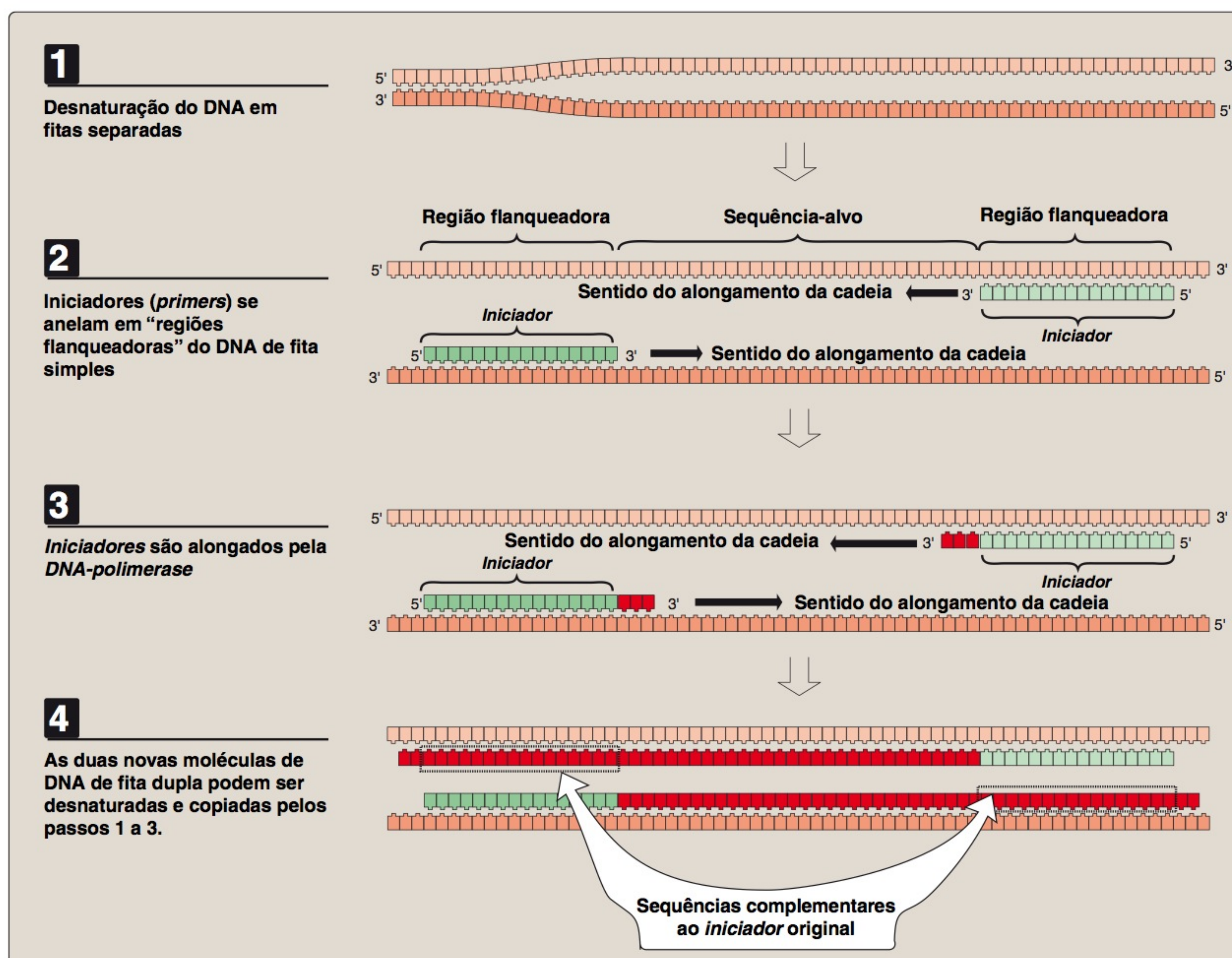
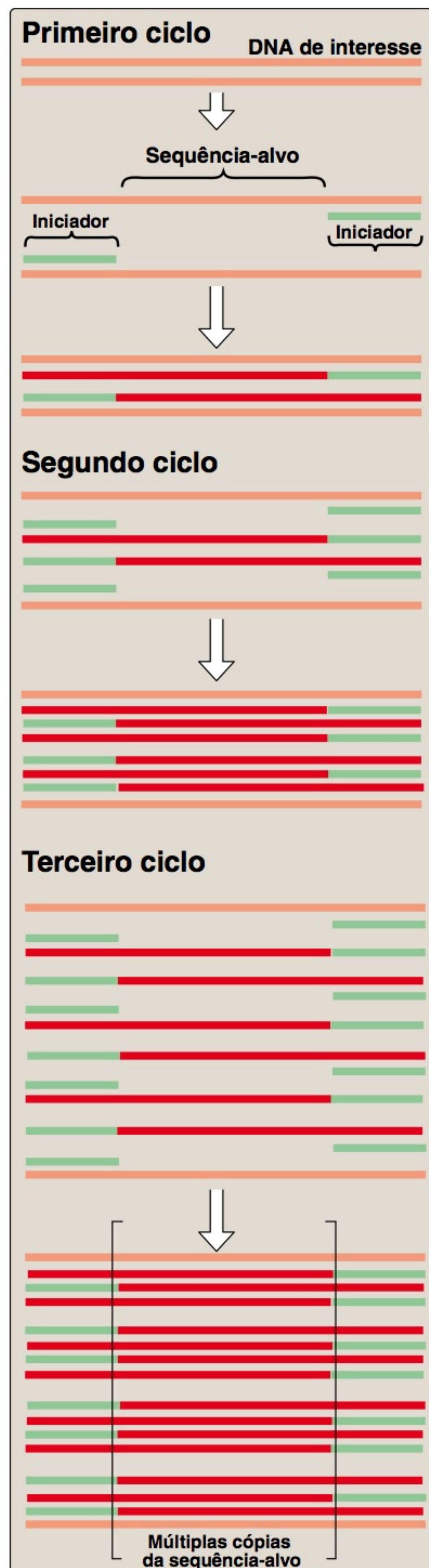


Figura 33.19

Passos em um ciclo da reação em cadeia da polimerase.

3. **Pareamento dos iniciadores ao DNA de fita simples.** As fitas separadas são resfriadas e pareadas aos dois iniciadores (um em cada fita).
4. **Extensão da cadeia.** *DNA-polimerase* e desoxirribonucleosídeos trifosfatados (em excesso) são adicionados à mistura para iniciar a síntese de duas novas cadeias, complementares às cadeias de DNA original. A *DNA-polimerase* adiciona nucleotídeos à extremidade 3'-hidroxila do iniciador (*primer*), e o crescimento da fita se estende ao longo do DNA-alvo, fazendo cópias complementares do alvo. (Nota: produtos de PCR podem apresentar comprimento de diversos milhares de pares de bases.) Quando um ciclo de replicação se completa, a mistura da reação é aquecida novamente para desnaturar as fitas de DNA (que a esta altura já são quatro). Cada fita de DNA se liga a um fragmento iniciador complementar, e o ciclo de extensão da fita é repetido. Por meio da utilização de uma *DNA-polimerase* estável ao calor (p. ex., a *Taq polimerase*, obtida de uma bactéria, *Thermus aquaticus*, que normalmente vive em altas temperaturas), a *polimerase* não é desnaturada e, portanto, não precisa ser adicionada a cada novo ciclo. Tipicamente, 20 a 30 ciclos são realizados durante esse processo, amplificando

**Figura 33.20**

Ciclos múltiplos da reação em cadeia da polimerase.

o DNA de um milhão (2^{20}) a um bilhão (2^{30}) de vezes. (Nota: cada produto de extensão de um iniciador inclui uma sequência complementar ao iniciador na extremidade 5' [veja a Figura 33.19]. Assim, cada polinucleotídeo recém-sintetizado pode agir como molde para os ciclos sucessivos [veja a Figura 33.20]. Isso leva a um aumento exponencial na quantidade de DNA-alvo em cada ciclo, daí o nome "reação em cadeia da polimerase".) Sondas podem ser produzidas durante a PCR pela adição de nucleotídeos marcados durante os últimos ciclos.

B. Vantagens da PCR

As maiores vantagens da PCR sobre a clonagem, como mecanismo para a amplificação de uma sequência específica de DNA, são a sensibilidade e a rapidez. Sequências de DNA presentes apenas em quantidades traço podem ser amplificadas e se tornarem a sequência predominante. A PCR é tão sensível que sequências de DNA presentes em uma única célula podem ser amplificadas e estudadas. Isolar e amplificar uma sequência específica de DNA por PCR é mais rápido e tecnicamente mais fácil do que os métodos de clonagem tradicionais, que utilizam técnicas de DNA recombinante.

C. Aplicações

A PCR se tornou ferramenta muito comum em grande número de aplicações. Estas incluem:

1. **Comparação do gene normal clonado com a forma mutante do gene, não clonada.** A PCR permite a síntese de DNA mutante em quantidade suficiente para um protocolo de sequenciamento sem a clonagem trabalhosa do DNA alterado.
2. **Deteção de sequências de ácidos nucleicos pouco abundantes.** Por exemplo, vírus que apresentam um período de latência longo, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), são difíceis de se detectar no estágio inicial da infecção por meio de métodos convencionais. A PCR oferece um método rápido e sensível para detectar sequências de DNA viral, mesmo quando somente uma pequena porção das células está infectada pelo vírus.
3. **Análise forense de amostras de DNA.** Impressões digitais de DNA, obtidas por PCR, revolucionaram a análise de evidências colhidas em cenas de crimes. O DNA isolado de um único fio de cabelo humano, uma pequena gota de sangue ou uma amostra de sêmen é suficiente para determinar se uma amostra vem de um determinado indivíduo. Os marcadores de DNA para fazer essa identificação, em geral, são polimorfismos de pequenas repetições em *tandem* muito similares aos VNTR descritos anteriormente (veja a p. 475), porém menores. (Nota: a verificação de paternidade utiliza as mesmas técnicas.)
4. **Diagnóstico pré-natal e detecção de portadores de fibrose cística.** A fibrose cística é uma doença genética autossômica recessiva, que resulta de mutações no gene da proteína reguladora de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR). A mutação mais comum é uma deleção de três pares de bases, que resulta na perda de um resíduo de fenilalanina da proteína CFTR (veja a p. 434).

Como o alelo mutante é três bases menor do que o alelo normal, é possível distinguir um do outro pelo tamanho do produto de PCR obtido da amplificação dessa porção de DNA. A Figura 33.21 ilustra de que forma o resultado desse teste de PCR pode fazer a distinção entre indivíduos homozigotos normais, heterozigotos (portadores) e homozigotos mutantes (afetados).



A PCR pode gerar 100 bilhões de cópias idênticas de uma determinada sequência de DNA em uma única tarde, usando um sistema altamente automatizado.

VIII. ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA

As ferramentas da biotecnologia não somente nos permitem estudar a estrutura do gene, mas também nos fornecem meios de analisar os produtos da expressão gênica – RNAm e proteínas.

A. Determinação dos níveis de RNAm

Os níveis de RNA mensageiro geralmente são determinados por hibridização de sondas marcadas para o próprio RNAm ou para o DNAc produzido a partir do RNAm. (Nota: a amplificação do DNAc produzido a partir do RNAm pela *transcriptase reversa* (RT) retroviral é denominada RT-PCR.)

- 1. Transferência de Northern.** Transferências de Northern são muito similares à transferência de Southern (veja a Figura 33.12, p. 474), exceto pelo fato de que a amostra original contém uma mistura de moléculas de RNAm separadas por eletroforese e, a seguir, transferidas para uma membrana e hibridizadas com uma sonda radioativa. As bandas obtidas pela autorradiografia dão uma medida da quantidade e do tamanho de determinadas moléculas de RNAm na amostra.
- 2. Microarranjos.** Microarranjos (*microarrays*) de DNA contêm milhares de sequências imobilizadas de DNA, organizadas em uma área não maior que uma lâmina de microscópio. Esses microarranjos são usados para analisar uma amostra, procurando pela presença de variações de genes ou mutações (genotipagem), ou para determinar os padrões de produção de RNAm (análise da expressão gênica), analisando milhares de genes ao mesmo tempo. Para a análise de genotipagem, a amostra celular é o DNA genômico. Para a análise de expressão, a população de moléculas de RNAm, obtidas a partir de um determinado tipo de célula, é convertida em DNAc e marcada com corante fluorescente (Figura 33.22). Essa mistura é então exposta a uma matriz (*gene-chip*) – lâmina de vidro ou membrana contendo milhares de pequenos pontos de DNA, cada um correspondendo a um gene diferente. A quantidade de fluorescência em cada ponto é a medida da quantidade daquele determinado RNAm na amostra. Microarranjos de DNA são geralmente utilizados para a determinação de diferentes padrões de expressão gênica em dois tipos distintos de células – por exemplo, células normais e cancerosas (veja a Figura

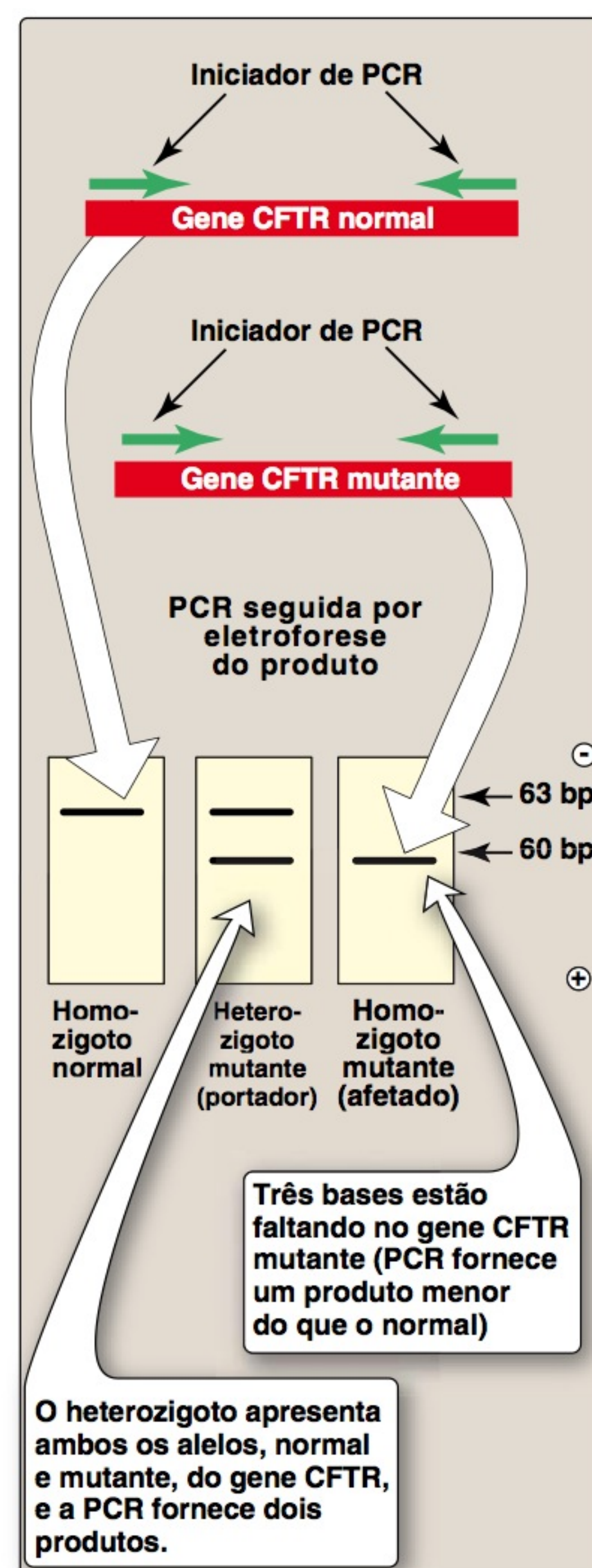
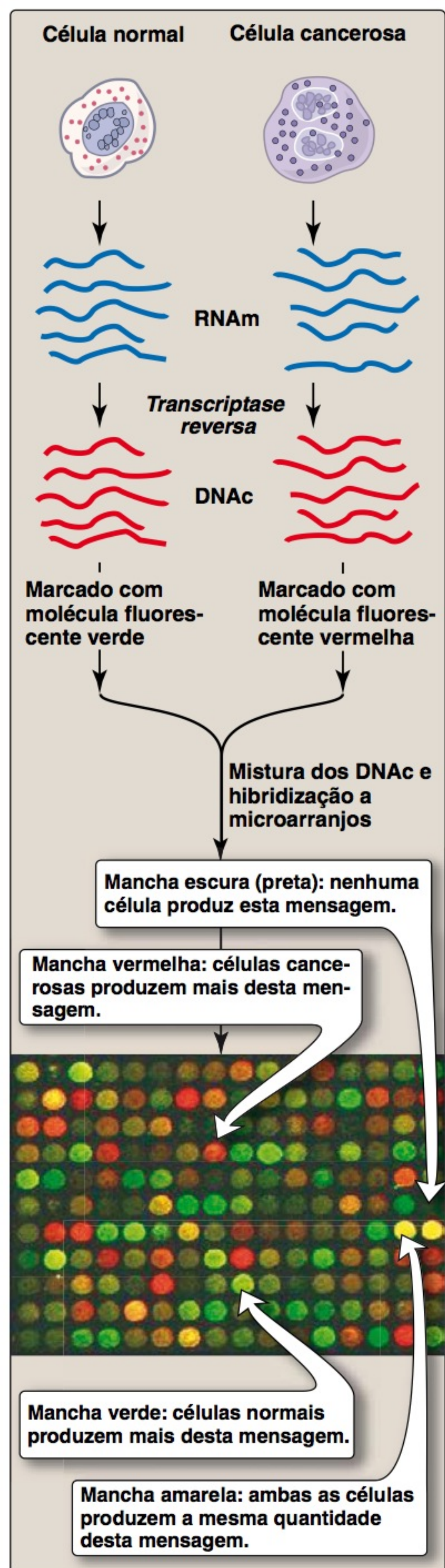


Figura 33.21

Teste genético para fibrose cística usando PCR. CFTR = regulador transmembrana da fibrose cística.

**Figura 33.22**

Análise da expressão gênica por microarranjo (*microarray*).

33.22). Os médicos esperam ser capazes, um dia, de estabelecer o tratamento correto para cada paciente com câncer, com base no padrão específico de expressão de microarranjos apresentado pelo tumor individual do paciente.

B. Análise de proteínas

O tipo e a quantidade de proteínas nas células nem sempre correspondem diretamente à quantidade de RNAm presente. Alguns RNAm são traduzidos mais eficientemente do que outros, e algumas proteínas sofrem modificações após a tradução, pela adição de glicídeos ou lipídeos ou de ambos. Quando investigamos um produto gênico ou um número limitado de produtos gênicos, é conveniente usar anticorpos marcados para detectar e quantificar proteínas específicas. Entretanto, quando analisamos a quantidade e as interações de um grande número de proteínas celulares (a chamada proteômica, veja a seguir), métodos automatizados são utilizados, empregando eletroforese bidimensional em gel, espectrometria de massa, cromatografia líquida multidimensional e bioinformática.

1. **Ensaaios imunoabsorventes ligados a enzimas (ELISA).** Esses métodos são realizados em poços de placas plásticas. O antígeno (proteína) é ligado ao plástico da placa. A sonda utilizada consiste em um anticorpo específico para uma determinada proteína a ser medida. Esse anticorpo é ligado covalentemente a uma enzima, que irá produzir um produto colorido quando exposta ao seu substrato. A quantidade de cor produzida pode ser usada para determinar a quantidade de proteína (ou anticorpo) na amostra testada.
2. **Transferência de Western.** As transferências de Western (também chamadas de *imunoblots*) são similares às transferências de Southern, exceto pelo fato de que as moléculas de proteína na amostra são separadas por eletroforese e transferidas para uma membrana. A sonda é um anticorpo marcado que produz uma banda onde estiver localizado o seu antígeno.
3. **Detectando exposição ao HIV.** Ensaaios por meio de ELISA e transferência de Western são comumente utilizados para detectar exposição ao HIV pela medida da quantidade de anticorpos anti-HIV presentes em uma amostra de sangue do paciente. Ensaaios por ELISA são usados como ferramenta inicial de triagem, pois são muito sensíveis. Entretanto, esses ensaios algumas vezes fornecem resultados falso-positivos, e, por isso, transferências de Western, mais específicas, são usadas como testes para confirmação (veja a Figura 33.23). (Nota: ELISA e transferência de Western só podem detectar a exposição ao HIV após os anticorpos anti-HIV aparecerem na corrente sanguínea. Testes para HIV com base em PCR são mais úteis nos primeiros meses após a exposição.)
4. **Proteômica.** A proteômica envolve o estudo de todas as proteínas expressas por um genoma, incluindo abundância relativa, distribuição, modificações realizadas após a tradução, funções e interações com outras macromoléculas. Os 20.000 a 30.000 genes codificadores de proteínas do genoma humano são traduzidos em mais de 100.000 proteínas, quando são consideradas modificações pós-transcricionais e pós-traducionais. O genoma permanece inaltera-

do, ao passo que as quantidades e os tipos de proteínas em qualquer célula em particular mudam consideravelmente à medida que os genes são acionados ou “desligados”. A proteômica oferece o potencial de identificar novos marcadores de doenças e alvos para fármacos. A Figura 33.24 compara algumas das técnicas analíticas discutidas neste capítulo.

IX. TERAPIA GÊNICA

O objetivo da terapia gênica é inserir o DNA de um gene normal, clonado, em células somáticas de um paciente que possui esse gene defeituoso, em decorrência de mutação causadora de doença. O DNA deve tornar-se permanentemente integrado aos cromossomos do paciente, de forma a ser expresso adequadamente para produzir a proteína correta. Por exemplo, pacientes com imunodeficiência combinada grave (SCID, de *severe combined immunodeficiency disease*) apresentam imunodeficiência como resultado de mutações no gene da *adenosina-desaminase* (veja a p. 301) ou no gene que codifica uma subunidade do receptor da interleucina (imunodeficiência combinada grave ligada ao X, SCID-X1). Pacientes com ambos os tipos de SCID têm sido tratados com sucesso com a incorporação de cópias funcionais do gene adequado em suas células (Figura 33.25). (Nota: isso em geral é chamado de “terapia de reposição gênica”.) Embora a terapia gênica seja uma estratégia terapêutica atraente para indivíduos com doenças herdadas, o método não é isento de riscos. Por exemplo, a transferência gênica mediada por retrovírus foi capaz de corrigir a imunodeficiência combinada grave ligada ao X (SCID-X1) em 9 de 10 pacientes. Entretanto, vários pacientes desenvolveram leucemia, provavelmente por causa da ativação de um oncogene hematopoiético. A terapia gênica é, certamente, um trabalho em evolução.

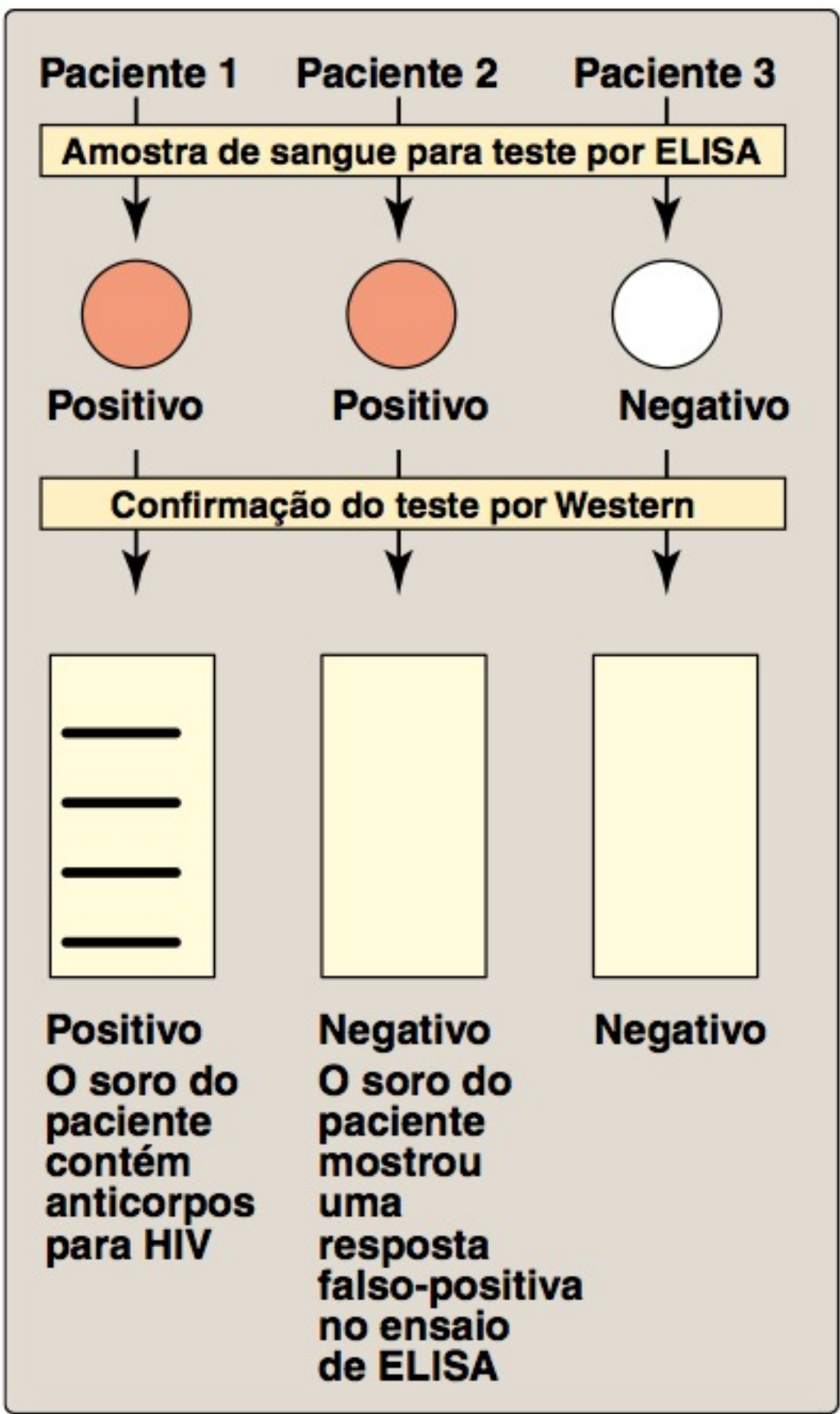


Figura 33.23
Teste para exposição ao HIV por ELISA (ensaio imunoabsorvente ligado à enzima) e transferência de Western.

TÉCNICA	AMOSTRA ANALISADA	UTILIZAÇÃO DE GEL	OBJETIVO
Transferência de Southern	DNA	Sim	Detecta mudanças no DNA
Transferência de Northern	RNA	Sim	Mede quantidade e tamanho de RNAm
Transferência de Western	Proteína	Sim	Mede quantidades de proteínas
ASO	DNA	Não	Detecta mutações no DNA
Microarranjo	DNAc ou DNA genômico	Não	Mede os níveis de vários RNAm ao mesmo tempo; detecta alterações genômicas
ELISA	Proteínas ou anticorpos	Não	Detecta proteínas (antígenos) ou anticorpos; detecta alterações genômicas
Proteômica	Proteínas	Sim	Mede abundância, distribuição, modificações pós-traducionais, funções e interações de proteínas celulares

Figura 33.24
Técnicas utilizadas para analisar DNA, RNA e proteínas. ASO = oligonucleotídeos alelo-específicos. ELISA = ensaio imunoabsorvente ligado à enzima.

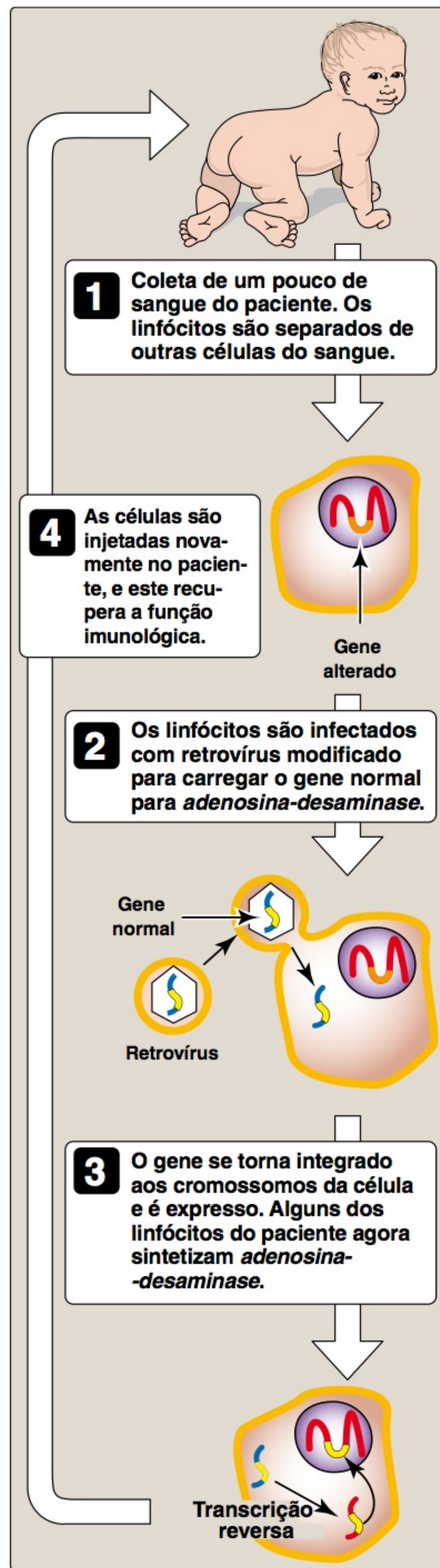


Figura 33.25

Terapia gênica para um paciente com imunodeficiência combinada grave causada por uma deficiência na *adenosina-desaminase*.

X. ANIMAIS TRANSGÊNICOS

Animais transgênicos podem ser produzidos por meio da injeção de um gene clonado em um ovo fertilizado. Se o gene se integrar com sucesso a um cromossomo, estará presente na linhagem germinativa do animal resultante e poderá ser passado de geração a geração. Um camundongo gigante chamado “Supercamundongo” foi produzido dessa forma, injetando-se o gene para o hormônio do crescimento de rato em um ovo fertilizado de camundongo. Do mesmo modo, cabras e vacas transgênicas podem hoje ser planejadas para produzir proteínas humanas, como fatores de coagulação do sangue, em seus leites. Algumas vezes, em vez de introduzir um gene funcional em um camundongo transgênico, um gene mutante não funcional é utilizado para substituir as cópias normais desse gene nas células do camundongo. Essa engenharia genética pode ser usada para produzir uma colônia de “camundongos nocaute”, deficientes no produto do gene afetado. Tais animais podem servir como modelos para o estudo de uma doença humana correspondente. (Nota: camundongos nocaute são produzidos se o gene inserido expressa um produto mutado ou expressa de forma insuficiente ou em excesso o seu produto.)

XI. RESUMO DO CAPÍTULO

Endonucleases de restrição são enzimas bacterianas que clivam a fita dupla de DNA em fragmentos menores. Cada enzima cliva o DNA em posições onde ocorrem sequências específicas de nucleotídeos, com quatro a oito pares de bases, produzindo segmentos de DNA chamados **fragmentos de restrição**. As sequências reconhecidas são **palíndromos**. Essas enzimas produzem ou **cortes em degrau (extremidades adesivas)** ou **extremidades retas** no DNA. Uma sequência de DNA reconhecida por uma enzima de restrição é chamada **sítio de restrição**. **DNA-ligases bacterianas** podem parear dois fragmentos de DNA de diferentes fontes se eles foram cortados pela mesma endonuclease de restrição. Essa combinação híbrida de dois fragmentos é chamada de **molécula de DNA recombinante**. A introdução de uma molécula de DNA de outro organismo em uma célula em divisão permite a **amplificação** (produção de muitas cópias) do DNA – processo chamado de **clonagem**. Um **vetor** é uma molécula de DNA à qual está ligada o fragmento de DNA a ser clonado. Os vetores devem ser capazes de **replicação autônoma** na célula hospedeira e devem conter pelo menos uma sequência de nucleotídeos específica reconhecida por uma endonuclease de restrição. Também devem carregar pelo menos um gene que confira ao vetor capacidade de seleção, como um **gene de resistência a antibiótico**. Organismos procarióticos normalmente contêm moléculas de DNA extracromossomais, pequenas e circulares, chamadas **plasmídeos**, que podem servir como **vetores**. Eles podem ser rapidamente isolados de uma bactéria, ligados ao DNA de interesse e introduzidos novamente na bactéria que vai se replicar, fazendo assim múltiplas cópias do **plasmídeo híbrido**. Uma **biblioteca de DNA** é uma coleção de fragmentos de restrição clonados do DNA de um organismo. Uma **biblioteca genômica** é uma coleção de fragmentos de DNA de fita dupla, obtidos da digestão do DNA total do organismo com uma endonuclease de restrição e subsequente ligação a um vetor apropriado. Ela contém idealmente uma cópia de cada sequência de nucleotídeos do DNA do genoma. Em contraste, bibliotecas de **DNAC**

(**DNA complementar**) contêm somente sequências de DNA complementares às moléculas de RNA mensageiro (RNAm) presentes em uma célula e diferem de um tipo celular para outro. Como o DNAC não possui sequências não codificadas, como íntrons, ele pode ser clonado em um **vetor de expressão**, para a síntese de proteínas eucarióticas por bactérias. Fragmentos de DNA clonados e purificados podem ser sequenciados, por exemplo, utilizando-se o **método de dideoxi de Sanger**. A **sonda** é um pequeno pedaço de DNA de fita simples (geralmente marcado com um radioisótopo, como o ^{32}P , ou com outro composto que possa ser reconhecido, como a biotina) que apresenta uma sequência de nucleotídeos complementar à molécula de DNA de interesse (**DNA-alvo**). Sondas podem ser utilizadas para identificar qual clone de uma biblioteca ou qual banda em um gel contém o DNA-alvo. A **transferência de Southern** é uma técnica que pode detectar sequências específicas, presentes no DNA. O DNA é clivado por meio de uma **endonuclease de restrição**, os fragmentos são separados por **eletroforese em gel** e, a seguir, são desnaturados e transferidos para uma **membrana de nitrocelulose** para análise. O fragmento de interesse é detectado por meio de uma **sonda**. O genoma humano contém milhares de **polimorfismos (variações da sequência de DNA em um dado local)**, que não afetam o fenótipo do indivíduo. Polimorfismos podem ser resultantes de modificações em uma única base ou de repetições em *tandem*. Um polimorfismo pode servir como marcador genético e ser traçado em famílias. Um **polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição** é uma variante genética que pode ser examinada pela clivagem do DNA em **fragmentos de restrição**, utilizando-se uma **enzima de restrição**. A **substituição de uma base** em um ou mais nucleotídeos em um sítio de restrição pode tornar esse sítio irreconhecível por uma determinada endonuclease de restrição. Um novo sítio de restrição também pode ser criado pelo mesmo mecanismo. Em ambos os casos, a clivagem com a endonuclease resulta em fragmentos de comprimentos diferentes do normal, que podem ser detectados por hibridização do DNA. Essa técnica pode ser usada para diagnosticar doenças genéticas no feto no início da gestação. A **reação em cadeia da polimerase (PCR)**, método para **amplificação** de uma sequência selecionada de DNA, não se baseia no método de clonagem biológica. Essa técnica permite a síntese, em poucas horas, de milhões de cópias de uma sequência nucleotídica específica. Ela pode amplificar a sequência, mesmo quando a sequência-alvo é menos de uma parte em um milhão da amostra total inicial. O método pode ser usado para amplificar sequências de DNA de qualquer fonte. **Aplicações da técnica de PCR** incluem: 1) comparações eficientes de um gene normal clonado com uma forma mutante não clonada; 2) detecção de sequências pouco abundantes de ácidos nucleicos; 3) análise forense de amostras de DNA; e 4) diagnóstico pré-natal e detecção de portadores, como, por exemplo, de fibrose cística. Os **produtos da expressão gênica** (RNAm e proteínas) podem ser medidos por técnicas como as que seguem. **Transferências de Northern** são muito similares às transferências de Southern, exceto pelo fato de que a amostra original contém uma mistura de moléculas de **RNAm**, separadas por eletroforese e depois hibridizadas com uma sonda radioativa. **Microarranjos** são utilizados para determinar os diferentes padrões de expressão gênica em dois tipos diferentes de células – por exemplo, células normais e cancerosas. **Ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas (ELISA)** e **transferência de Western (imunoblot)** são usados para detectar proteínas específicas. O objetivo da **terapia gênica** é a inserção de um gene normal para substituir um gene defeituoso. A inserção de um gene exógeno em um animal cria um **animal transgênico**, que pode produzir proteínas com finalidades terapêuticas ou servir como modelo para doenças humanas.

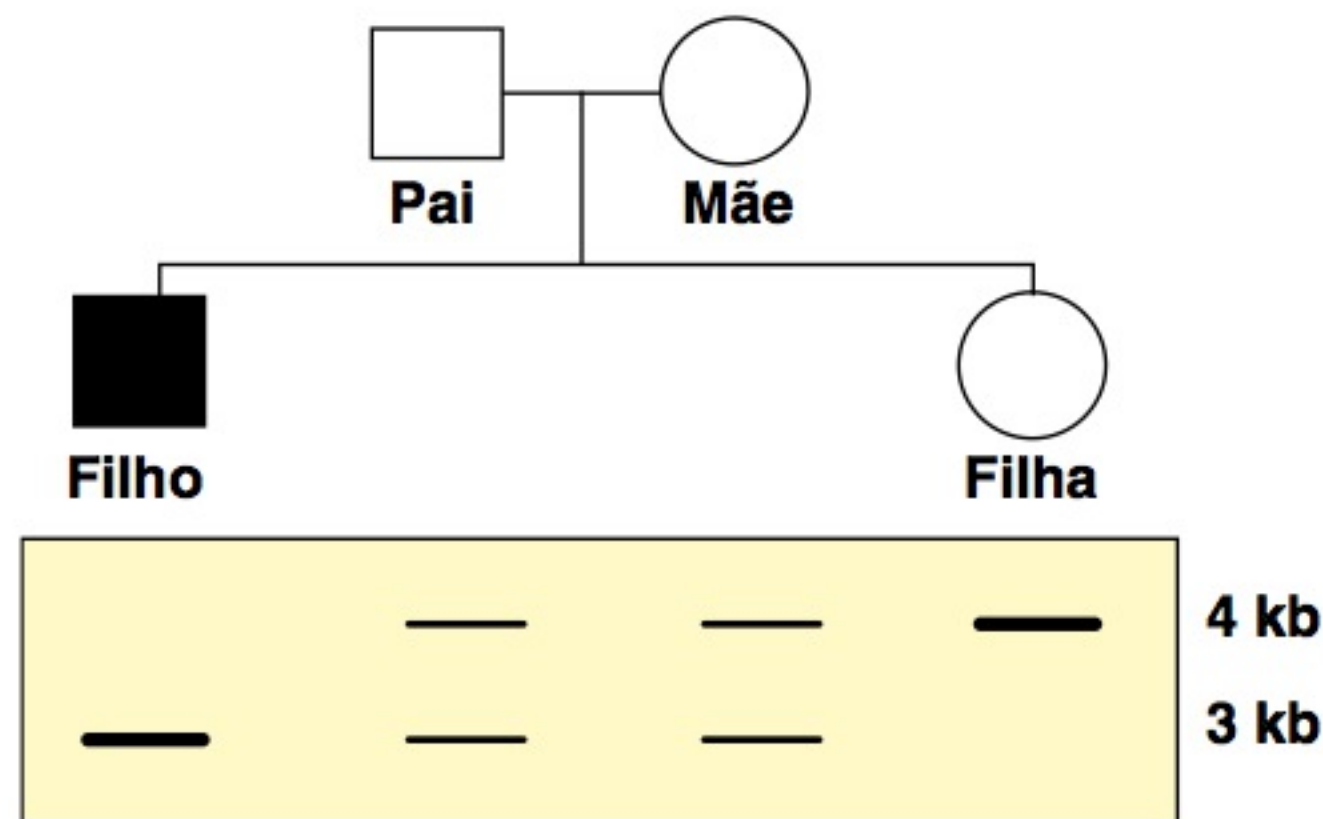
Questões para estudo

Escolha a ÚNICA resposta correta.

- 33.1 *Hind*III é uma endonuclease de restrição, comumente usada para clivar DNA humano em fragmentos, antes de inseri-lo em um plasmídeo. Qual das alternativas abaixo seria a mais provável sequência de reconhecimento para essa enzima?
- A. AAGGAA.
 - B. AAGAAG.
 - C. AAGTTC.
 - D. AAGCTT.
 - E. AAGAGA.

Resposta correta = D. A grande maioria das endonucleases de restrição reconhece palíndromos, e AAGCTT é o único palíndromo entre as escolhas. Como somente é dada a sequência de uma fita de DNA, deve-se determinar a sequência de bases da fita complementar. Para ser um palíndromo, ambas as fitas devem ter a mesma sequência quando lidas na direção 5' → 3'. Assim, o complemento de 5' – AAGCTT – 3' também é 5' – AAGCTT – 3'.

- 33.2 Um casal de judeus ashkenazi traz o filho de seis meses para ser avaliado por apresentar desatenção, controle deficiente da cabeça e olhar fixo. Você diagnostica doença de Tay-Sachs, uma doença autossômica recessiva. O casal também tem uma filha. O diagrama abaixo mostra a árvore genealógica da família, juntamente com a análise, por transferência de Southern, de um RFLP fortemente ligado ao gene da hexosaminidase A, enzima deficiente na doença de Tay-Sachs. Qual das afirmações abaixo é mais correta com relação à filha?



- A. Ela tem 25% de chance de apresentar a doença de Tay-Sachs.
 B. Ela tem 50% de chance de apresentar a doença de Tay-Sachs.
 C. Ela tem a doença de Tay-Sachs.
 D. Ela é portadora da doença de Tay-Sachs.
 E. Ela é homozigota normal.
- 33.3 Um médico gostaria de determinar os padrões globais de expressão gênica em dois tipos diferentes de células tumorais, a fim de desenvolver a forma mais apropriada de quimioterapia para cada paciente. Qual das seguintes técnicas seria mais apropriada para tal objetivo?
- A. Transferência de Southern.
 B. Transferência de Northern.
 C. Transferência de Western.
 D. ELISA.
 E. Microarranjos.
- 33.4 Um bebê de duas semanas é diagnosticado com deficiência no ciclo da ureia. A análise enzimática mostrou não haver atividade da ornitina-transcarbamoilase (OTC). A análise molecular revelou que o RNAm, produto do gene da OTC, era idêntico ao de um controle. Qual das técnicas listadas abaixo mais provavelmente foi utilizada para analisar o tamanho e a quantidade do RNAm?
- A. Terminação da cadeia usando didesoxi.
 B. Transferência de Northern.
 C. Reação em cadeia da polimerase.
 D. Transferência de Southern.
 E. Transferência de Western.

Resposta correta = E. Os pais devem ser portadores da doença. O filho deve ter herdado um alelo mutante de cada genitor. Como ele mostra somente uma banda de 3 kb na transferência de Southern, o alelo mutante para essa doença deve estar ligado à banda de 3 kb em cada genitor. O alelo normal deve estar ligado à banda de 4 kb em ambos os pais. Como a filha herdou a banda de 4 kb de ambos os pais, ela deve ser homozigota normal para o gene da hexosaminidase A.

Resposta correta = E. A análise por microarranjos permite a determinação da produção de RNAm (e, assim, a expressão gênica) de milhares de genes de uma vez. Uma transferência de Northern mede somente a produção de RNAm de um gene de cada vez. Transferência de Western e ELISA medem a produção de proteínas (também expressão gênica), mas somente de um gene por vez. Transferências de Southern são usadas para analisar o DNA e não a expressão gênica.

Resposta correta = B. A transferência de Northern permite a análise do RNAm presente (expresso) em determinada célula ou determinado tecido. A transferência de Southern é usada para análise do DNA, já a transferência de Western é usada para análise de proteínas. A terminação da cadeia usando o método de dideoxi é usada para sequenciar o DNA. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é usada para gerar múltiplas cópias idênticas de uma sequência de um DNA *in vitro*.

Índice

Números de páginas em **negrito** indicam a principal discussão do tópico. Números de páginas seguidos por *f* denotam figuras. “*Veja*” em referências cruzadas direciona o leitor para um termo sinônimo. “*Veja também*” em referências cruzadas direciona o leitor para tópicos relacionados. (Nota: designações de posições ou configurações nos nomes químicos (p. ex., “3-”, “ α ”, “N-”, “D-”) são ignoradas na classificação alfabética.)

A

A montante, 420
A β , na Doença de Alzheimer, 21
ABCA1, 236
Abetalipoproteinemia, 231
Abreviaturas, para os aminoácidos, 5-6, 5-6*f*
Absorção de fármacos, equação de Henderson-Hasselbalch para a, 9, 9*f*
Aceptores de elétrons, 73-76
Aceptores de prótons, aminoácidos como, 5-6
Acetaldeído, 317
Acetanilida, 153
Acetato (ácido acético), 6-7*f*, 7, 182*f*
na síntese do colesterol, 220
titulação do, 6-7*f*, 7
Acetila, resíduo de, no fator de ativação plaquetário, 202, 202*f*
Acetilação, 422, 422*f*
N⁴-Acetilcitosina, 292*f*
Acetil-CoA, 96-97
aminoácidos que produzem, 266-267
ativação alostérica, 122
ativação da piruvato-carboxilase por, 119, 119*f*
carboxilação a malonil-CoA, 183-184, 184*f*
complexo da piruvato-desidrogenase como fonte de, 109-110, 109-110*f*
conversão de nutrientes em, 93-94, 93-94*f*
descarboxilação do piruvato a, 96-97, 105, 106*f*, 109-111, 110-111*f*
formação de
na oxidação de ácidos graxos, 192, 192*f*
no catabolismo de aminoácidos, 261-262, 266-267, 266-267*f*

na glicólise, 96-97
na gliconeogênese, 119, 119*f*, 122
na síntese de ácidos graxos, 183-184
na síntese de corpos cetônicos, 195-196, 196*f*
na síntese do citrato, 111-112, 111*f*
na síntese do colesterol, 220
no ciclo do ácido cítrico, 109-111, 109-110*f*
no diabetes melito, 197
no estado absortivo/alimentado, 323-325, 323-324*f*
oxidação de, 93-94, 93-94*f*
produção citosólica de, 183
Acetil-CoA-ACP-acetiltransferase, 184
Acetil-CoA-carboxilase, 183, 185*f*, 190
ativação alostérica da, 183-184, 184*f*
desfosforilação da, 184
fosforilação da, 183-184
inativação alostérica da, 183, 184*f*
no estado absortivo/alimentado, 324-325
no jejum, 330
regulação a curto prazo da, 183-184, 184*f*
regulação a longo prazo da, 184
regulação hormonal da, 184, 184*f*
Acetil-CoA-carboxilase-2 (ACC2), 191
Acetilcolinesterase
inibição por inseticidas, 62
no ancoramento proteico à membrana, 206
N-Acetil-D-glicosamina, 142
N-Acetilgalactosamina (GalNAc), 160, 168
N-acetilglicosamina (GlcNAc), 160, 166, 168
N-acetilglicosamina 6-sulfatase, deficiência de, 164*f*
N-Acetilglicosaminidase, deficiência de, 164*f*
N-acetilglutamato
no ciclo da ureia, 253, 254*f*
síntese de, 255*f*, 256
N-acetilglutamato-sintase, 256
N-acetil-lactosamina, 142
Acetoacetato, 195-196, 196*f*
formação no catabolismo dos aminoácidos, 261, 262, 266-267, 266-267*f*
Acetoacetil-CoA, formação no catabolismo dos aminoácidos, 262, 266-267

Acetona, 195, 196*f*, 262
Acidemia
corpos cetônicos e, 197
metilmalônica, 194
Acidemia metilmalônica, 194, 377
Acidente vascular cerebral, nutrição e, 361*f*
Ácido 5-hidroxi-6,8,11,14-eicosatetraenoico (5-HPETE), 214, 215*f*
Ácido α -linoleico, 182, 182*f*
Ácido α -linolênico, 363
Ácido ascórbico, **377-378**, 392*f*.
Veja também Vitamina C
deficiência de, 47-48
Ácido butírico, 182*f*
Ácido caprílico, 182*f*
Ácido carbônico, 267-268
Ácido clorídrico, 248
Ácido clorídrico, na digestão de proteínas, 247
Ácido cólico, 224, 224*f*, 225*f*
Ácido δ -aminolevulínico (ALA), formação do, 278-279, 278-279*f*
Ácido δ -aminolevulínico-desidrase, 278-279*f*, 279
Ácido δ -aminolevulínico-sintase-2 (ALAS-2), 278-279
Ácido desoxicólico, 225
Ácido D-glicurônico, 157-158, 157-158*f*, 161
Ácido docosaexaenoico (DHA), 363
Ácido eicosapentenoico, 363
Ácido esteárico, 182*f*, 361
Ácido fitânico, 195, 195*f*
Ácido fólico (folato), 262, 265-266, **374-376**
análogos estruturais do, 293, 294*f*
como transportador de unidades de 1 carbono, 267-268
deficiência de, 267-268
diagnóstico de, 262
e anemia, 374-376, 374-375*f*
e defeitos do tubo neural, 375-376
deficiência de vitamina B₁₂ e, 375-377
forma ativa do (ácido tetra-hidrofólico), 392*f*
na síntese de timidina monofosfato, 303-304, 304*f*, 374-375
no metabolismo de grupos de um carbono, 267-268, 267-268*f*
função do, 374-375, 392*f*
ingestão de, na dieta
e risco cardiovascular, 265-266, 265-266*f*
ingestão dietética de referência para o, 358-359*f*
na homocistinúria, 273
no metabolismo de aminoácidos, 267-268
síntese de, inibição por fármacos, 374-376, 374-375*f*
suplementação de, 375-376
Ácido fólico, análogos do
ação dos, **374-376**, 374-375*f*
inibição da di-hidrofolato-redutase pelos, 374-375*f*, 375-376

inibição da síntese de purinas pelos, 294*f*, 295, 374-375*f*, 375-376
Ácido fórmico, 182*f*
como unidade de um carbono, 267-268
Ácido fosfatídico, 201, 201*f*, 202
síntese do, 189*f*, 203
Ácido glicocólico, 175, 175*f*, 225, 225*f*
Ácido glicoquenodesoxicólico, 225, 225*f*
Ácido glicurônico, 150, 161
Ácido graxo-sintase, 184-186, 185*f*, 187
ácido pantotênico na, 381
Ácido hialurônico, 159*f*, 163
Ácido hipocloroso (HClO), 150
Ácido homogentísico, 274
Ácido homovanílico, 286
Ácido L-idurônico
nos glicosaminoglicanos, 157-158, 157-158*f*, 161
síntese de, 161
Ácido lignocérico, 182*f*, 207
Ácido linoleico, 182*f*, 213, 214*f*, 363
Ácido lipoico
como coenzima
para a desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada, 266-267
para o complexo da α -ceto-glutarato-desidrogenase, 112
para o complexo da piruvato-desidrogenase, 110-111
no envenenamento pelo arsênico, 111
Ácido lisofosfatídico, 189*f*
Ácido mevalônico (mevalonato), 220-221, 220-222*f*
Ácido micofenólico, 295*f*, 296
Ácido mirístico, 361
Ácido N-acetilneuramínico (NANA), 166
em glicosfingolípídeos ácidos, 208-209
síntese de, 160
Ácido nervônico, 182*f*, 207
Ácido neuramínico, nos oligossacarídeos, 165
Ácido nicotínico. *Veja* Niacina
Ácido nitroso, 411-412
Ácido oleico, 182*f*
Ácido orótico, síntese de, 302, 303*f*
Ácido palmítico, 182*f*, 361
Ácido palmitoleico, 182*f*
Ácido pantotênico, 54, 184, **381**, 392-393*f*
deficiência de, 381, 393*f*
função do, 381, 392*f*
ingestão na dieta de, 381
ingestão dietética de referência para o, 358-359*f*
na coenzima A, 381, 381*f*
Ácido propiônico, 182*f*
Ácido retinoico, 381-382, 382*f*, 392*f*
e reprodução, 384
mecanismo de ação, 382, 384*f*

- na regulação da transcrição, 455-456
 oxidação do retinol a, 384f
 uso na dermatologia, 385, 385f, 386
- Ácido siálico. *Veja* Ácido N-acetil-neuramínico
- Ácido taurocólico, 225
- Ácido tauroquenosoxicolico, 225, 225f
- Ácido tetra-hidrofólico (THF). *Veja também* Ácido fólico
- deficiência de vitamina B₁₂ e, 376-377
- inibição da síntese de, 374-375f, 375-376
- na síntese de timidina monofosfato, 303, 304f
- no metabolismo dos compostos de um carbono, 267-268, 267-268f
- Ácido úrico
- como produto final da degradação das purinas, 297-299, 300f
- conversão de ácidos nucleicos da dieta em, 297-298, 299f
- formação do, 297-299
- na gota, 299-301, 301f
- na síndrome de Lesch-Nyhan, 296-297, 296f, 300
- produção em excesso de, 299-301
- redução na excreção de, 299
- Ácido urocânico, 262, 263-264f
- Ácido urônico, via do, 161, 162f
- Ácido vanililmandélico, 286
- Acidobásicas, propriedades dos aminoácidos, 6-7-9
- equação de Henderson-Hasselbalch para as, 6-7-9
- Ácidos, aminoácidos, 3f, 5-6
- Ácidos graxos, 173f
- armazenados, mobilização dos, **189-195**
- armazenamento dos, 188-189, 188f
- cis, 363f
- com número ímpar de átomos de carbono, oxidação dos, 193-195, 195f
- com número par de carbonos, saturados, 194f
- como combustível para o músculo esquelético em repouso, 332
- como componentes dos triacilgliceróis, 181-183, 188-189
- liberação dos, 190
- como componentes estruturais, 181
- como precursores de prostaglandinas, 181
- comprimentos da cadeia, 182
- de cadeia curta e média, transporte para a mitocôndria, 192
- de cadeia longa, 181
- transporte para a mitocôndria, 190-192, 191f
- de cadeia muito longa, 187
- de cadeia ramificada, 195, 195f
- degradação dos, 181f, 194f
- no diabetes melito, 197
- dessaturação dos, 188
- destino dos, 189
- elongação dos, 187
- essenciais, 182
- esterificados, 181
- estrutura dos, **181-182**, 181f
- insaturados, 182, 182f
- oxidação dos, 195
- ligações duplas cis, 182, 182f
- livres (não esterificados), 181
- absorção pelas células da mucosa intestinal, 176
- destino dos, 178
- metabolismo dos, 173-180
- oxidação dos, como produtos da degradação dos lipídeos, 175-176
- transporte dos, 190
- metabolismo dos, **181-200**, 181f, 199f
- monoinsaturados, 182, 361
- oxidação dos, 195
- n-3 (ômega-3, ω -3), 182, 363, 364f
- n-6 (ômega-6, ω -6), 183, 363, 364f
- na dieta
- e doença cardíaca coronariana, 360-361, 361f
- monoinsaturados, 361-362, 362f, 364f
- poli-insaturados, 362-363, 362f, 364f
- saturados, 361, 362f, 364f
- natureza anfipática dos, 181
- no estado absorvivo/alimentado, 323-326f, 324-326
- no jejum, 331-332, 331-332f
- nomes comuns de, 182, 182f
- nova síntese dos, 176-177
- oxidação dos
- α , 195, 195f
- β , 190-195, 191f, 192f
- doenças da, 192
- enzimas envolvidas na, 192f
- liberação de energia pela, 189, 192, 193f
- no jejum, 330, 330f
- no peroxissomo, 195
- UCP1 (termogenina) na, 79
- via mitocondrial para, 190-192, 191f
- plasma, 181
- poli-insaturados, 182, 188
- saturação dos, 182, 182f, 361
- síntese *de novo* dos, **183-189**
- fontes de NADPH para a, 186, 186f
- passo determinante da velocidade na, 183-184, 184f
- relação com o metabolismo da glicose, 186, 187f
- temperatura de fusão dos, 182
- trans, 363-364, 363f, 364f
- transporte dos, 190-192
- Ácidos graxos cis, 363f
- Ácidos graxos de cadeia longa, 181
- transporte para a mitocôndria, 190-192, 191f
- Ácidos graxos de cadeia média, 192
- Ácidos graxos de cadeia muito longa (AGCML), 187, 195
- Ácidos graxos de cadeia ramificada, 195, 195f
- Ácidos graxos de cadeias curtas, 192
- Ácidos nucleicos, 292. *Veja também* DNA; RNA
- detecção de sequências incomuns, 481-482
- na dieta, degradação dos, 297-298, 299f
- tipos de, 395
- Acidose láctica, 104
- congenita, 111
- Acidose metabólica, 195
- Acidúria
- homogentísica, 274
- metilmalônica, 194
- orótica, 303, 303f
- Acidúria metilmalônica, 194, 377
- Acidúria orótica, 303, 303f, 304
- Acilas, proteína carregadora de (ACP), 184
- Acil-CoA
- de cadeia longa, 183
- enzimas na β -oxidação de, 192, 192f
- na síntese de ácido fosfatídico, 189f
- na síntese de triacilglicerol, 189, 189f
- Acil-CoA:colecsterol-aciltransferase (ACAT)*, 177, 233f, 234, 234f
- Acil-CoA:diacilglicerol-aciltransferase*, 176
- Acil-CoA:monoacilglicerol-aciltransferase*, 176
- Acil-CoA derivados, α - β -insaturados, 266-267
- Acil-CoA oxidase*, 195
- Acil-CoA-desidrogenase*, 75-76, 193
- Acil-CoA-desidrogenase dos ácidos graxos de cadeia média*, deficiência de, 193
- Acil-CoA-sintetase dos ácidos graxos de cadeia longa (tiocinase)*, 190
- Acil-CoA-sintetases (tiocinases)*, 176, 189
- Acil-CoA-transferase*, 208
- Aciltransferases*, 176-177
- Acne, ácido retinoico para a, 385
- Aconitase*
- inibição da, 112
- na isomerização do citrato, 111f, 112
- Acoplamento de reações, transporte de elétrons e fosforilação oxidativa, 78
- Acoplamento energético, 72-73, 72f
- ACTH, 239, 239f
- Açúcar(es). *Veja também* Dissacarídeo(s); Monossacarídeos; Oligossacarídeos; Polissacarídeos
- ácidos
- nos glicosaminoglicanos, 157-158, 157-158f, 161, 162f
- síntese, 161, 162f
- adicionados, 365
- aminados
- nos glicosaminoglicanos, 157-158, 157-158f, 160, 161f
- síntese, 160, 161f
- D- e L-, 84-85, 84-85f
- ingestão, 365
- e doença, 367
- reduzores, 84-86
- Açúcares ácidos, nos glicosaminoglicanos, 157-158, 157-158f, 161, 162f
- síntese de, 161, 162f
- Açúcares adicionados, 365
- Açúcares aminados
- nos glicosaminoglicanos, 157-158, 157-158f, 160, 161f
- síntese de, 160, 161f
- Açúcares reduzores, 84-86
- Adenilato-ciclase*, 133-134, 151
- Bordetella pertussis* e, 95-96
- glucagon e, 314
- lac-óperon (óperon da lactose) e, 451f, 452
- na degradação de triacilgliceróis, 190
- na regulação metabólica, 94-97, 95-96f
- Vibrio cholerae* e, 94
- Adenilato-cinase*, 296, 296f
- Adenina, 291, 291f, 292f, 305f, 396, 396f, 397
- em códons/código genético, 431-432, 432f
- pareamento com timina, 396f, 397, 398f
- Adenina arabinosídeo (vidarabina, araA), 408-409
- Adenina-fosforibosiltransferase (APRT)*, 296, 296f
- Adenosina, difosfato de (ADP)
- isocitrato-desidrogenase, ativação pelo, 112
- na regulação do ciclo do ácido cítrico, 114, 114f
- na síntese de ATP, 73, 77-78, 78f
- no ciclo da ureia, 255-256
- ribosilação, 95-96
- transporte de, para a membrana mitocondrial interna, 79
- Adenosina, monofosfato de (AMP; também chamado adenilato)
- cíclico. *Veja também* adenosina monofosfato cíclico (AMPC)
- conversão de IMP em, 295-296, 295f
- fosfofrutocinase-1, ativada por, 99
- gliconeogênese e, 123
- na degradação do glicogênio, 132, 133f
- no ciclo da ureia, 255-256
- Adenosina, trifosfato de (ATP)
- como carregador de energia, 72-73, 73f
- como doador de fosfato, 63, 73
- em vias anabólicas, 93-94
- em vias catabólicas, 91, 93, 93-94f
- estrutura do, 73, 73f

- fosfofrutocinase-1, inibida por, 99
 hidrólise de, energia livre padrão na, 73
 isocitrato-desidrogenase, inibição por, 112
 na contração muscular, 132
 na degradação proteica, 247
 na desaminação de aminoácidos, 252
 na glicólise, 96-97
 na glicólise aeróbia, 97-99, 100f, 101-104
 na glicólise anaeróbia, 104
 na síntese de ácidos graxos, 183, 183f
 na síntese de colesterol, 220
 na síntese de GMP, 295-296
 na síntese proteica, 437
 no ciclo da ureia, 255-256
 no transporte de aminoácidos, 249
 produção/síntese de
 na formação de piruvato, 101-103
 na fosforilação oxidativa, 73, 73f, 77-80
 na membrana mitocondrial interna, 73-74
 na oxidação de ácidos graxos, 192, 192f
 no ciclo do ácido cítrico, 109-110, 113, 113f, 114f
 pelo 3-fosfoglicerato, 101-102
 transporte para a membrana mitocondrial interna, 79
 variação na energia livre de, 77
- Adenosina desaminase (ADA)**, 299
 deficiência de, 297-298, 300f, 301-302
 terapia gênica para, 484-485, 486f
- Adenosina monofosfato cíclico (AMPC)**, 94
 ações do, 96-97f
 como segundo mensageiro, 94-97, 291
 glucagon e, 314
 hidrólise de, 95-97, 96-97f
 inibição da síntese de glicogênio por, 133-134, 133-134f
 na degradação de triacilgliceróis, 190, 190f
 na degradação do glicogênio, 132-133, 133f
- Adipócitos**
 na obesidade, 350-352
 reesterificação de ácidos graxos livres nos, 178
 volume dos, 324-325f, 325-326
- Adiponectina**
 na obesidade, 353
 no diabetes melito, 343
- A-DNA**, 398
- ADP**. *Veja* adenosina, difosfato de
- Adrenal**, hormônios esteroides do córtex da
 deficiência de, 238f
 secreção de, 239, 239f
- Adrenalina**
 degradação da, 286, 286f
 e insulina, 310, 310f
 e metabolismo do glicogênio, 132, 133f, 133-134, 133-134f
 e metabolismo energético, 307
 e secreção de glucagon, 313, 313f
 funções da, 285
 na degradação de triacilgliceróis, 190f
 na hiperglicemia, 315f, 316
 na hipoglicemia, 315, 315f
 na integração do metabolismo, 307
 na regulação da Acetil-CoA-carboxilase, 183, 184f
 na síntese de catecolaminas, 285-286, 286f
 no diabetes melito, 341
 no jejum, 331-332
 síntese da, 286, 286f
- Adrenérgicos**, sintomas, na hipoglicemia, 315
- Adrenocorticotropina (ACTH)**, 239, 239f
- Adrenoleucodistrofia**, 195, 236
- Adrenoleucodistrofia ligada ao X**, 195
- Aferentes**, sinais, 352-353, 353f
- Africanos**, descendentes de
 anemia falciforme em, 35
 intolerância à lactose em, 88
- Agrecan**, 158
- Agregação plaquetária**
 gorduras poli-insaturadas n-6 e n-3 e, 363, 363f
 inibição pelo óxido nítrico, 150, 151f
- Alanina**, 253
 cadeias laterais da, 2f
 catabolismo da, 263-264, 263-264f
 forma dipolar da, 7, 7f
 forma isoelétrica da, 7f, 8-9
 grupo amino da
 dissociação do, 7f, 8
 primário, 4-5f
 grupo carboxila, dissociação do, 7, 7f
 ligação peptídica com valina, 13, 14f
 no transporte de amônia, 253, 253f
 pKs da, 8
 propriedades ópticas da, 5-6, 5-6f
 síntese da, 267-268, 268f
 titulação da, 7-9, 7f, 8f
 transaminação da, 263-264, 263-264f
- β-Alanina**, 304
- Alanina-aminotransferase (ALT)**, 250, 250f, 251, 251f
 em doenças hepáticas, 251-252, 251f
 mecanismo de ação da, 251
 na icterícia, 284
 valor diagnóstico da, 251-253
- Alantoína**, 297-298
- ALA-sintase**, 278-279
 efeito de fármacos sobre a, 279
 nas porfirias, 280
- Albinismo**, 263-264, 268f, 269f, 273, 273f, 288
- Albinismo oculocutâneo**, 272, 272f
- Albinismo oculocutâneo tirosinase negativo**, 272, 272f
- Albumina**
 como transportadora
 de ácidos biliares, 225
 de ácidos graxos livres, 178, 190
 de aldosterona, 237
 de bilirrubina, 282
 função da, 4-5
- Alcaptonúria**, 263-264, 268f, 274, 274f
- Álcool**
 e cirrose hepática, 318
 e doença cardíaca coronariana, 364-365
 e fígado gorduroso, 318
 e hipoglicemia, 317-318, 317f
 e síndrome de Wernicke-Korsakoff, 379
 metabolismo do, 317-318, 317f
 nos glicerofosfolípidos, 202
- Álcool-desidrogenase**, 317
- Aldeído-desidrogenase**, 317
- Aldolase**, 100
- Aldolase A**, 138, 138f
- Aldolase B**, 138, 138f
 deficiência de, 138
- Aldose(s)**, 83-84, 83-84f
- Aldose-redutase**, 139, 140, 141f, 142
- Aldosterona**, 237, 237f, 239, 240f
- Alelo-específica**, sonda oligonucleotídica (ASO), 471-472, 471-472f, 484-485f
- Alfa-tocoferol**, betacaroteno, Estudo de Prevenção do Câncer, 391
- Alimentação entérica**, 369
- Alimento**
 conteúdo energético do, 359-360
 efeito térmico do, 359-360
- Alisina**, na biossíntese do colágeno, 48, 48f
- Alolactose**, 451f
- Alopurinol**, 301
- Alostéricas**, enzimas, 57, 67f
 cinética com curvas sigmoidais das, 57, 62f, 63
 efetores ou modificadores de, 62-63, 62f, 64f
 heterotrópicos, 63
 homotrópicos, 62-63
 negativos, 62
 positivos, 62
 no passo comprometido (determinante da velocidade) de uma via, 62
- Alostéricos**, ativadores
 na regulação metabólica, 94
 no estado absoritivo/alimentado, 321-322, 321-322f
 no jejum, 328-329
- Alostéricos**, efetores, 26-27, 40f, 62-63, 62f
 carboxilação do piruvato e, 119
 níveis de glucagon e, 122
 no estado absoritivo/alimentado, 321-322, 321-322f
 no jejum, 328-329
- Alostéricos**, inibidores, na regulação metabólica, 94, 252
- Alquila**, grupo
 insaturado, nos plasmalogênios, 202, 202f
 saturado, no fator de ativação plaquetário, 202, 202f
- Alta altitude**
 e anemia falciforme, 36
 e níveis de 2,3-bisfosfoglicerato, 31-32, 31-32f
- Alzheimer**, doença de, 21, 21f, 23f, 231
- Amanita phalloides**, 251f, 424
- α-Amanita**, inibição da RNA-polimerase II pela, 424
- Amida**, grupo, nas cadeias laterais de aminoácidos, 4-5
- Amidação**, síntese de aminoácidos não essenciais por, 268
- Amido**
 digestão do, 85-86
 ingestão na dieta, 365
- α-Amilase**, 86-87, 87-88f
- Amilo-α(1→4) α(1→6)-transglicosidase**, 128
- Amilo-α(1→6)-glicosidase**, 130
- Amiloide**, proteína precursora, 21
- β-amiloide**, proteína, 21
 na doença de Alzheimer, 21
- Amilose**, 128
- Amina(s)**
 amônia originária de, 257
 biologicamente ativas, 285-287
- Amino**, grupo, 1, 1f, 11f
 a, transferência de (transaminação), 245, 250-252, 250f, 251f, 266-267
 dissociação do, 7f, 8
 ligação peptídica com o grupo carboxila, 13-14, 14f
 primário, 4-5, 4-5f
 remoção de (desaminação), 245, 252-253, 252f, 261
 secundário, 4-5, 4-5f
- Aminoácido(s)**, 1-12
 abreviaturas e símbolos, 5-6, 5-6f
 absorção de, 249
 ácidos, 3f, 5-6
 amônia originária dos, 256
 básicos, 3f, 5-6
 cadeias laterais dos, 1-6, 1f, 2-3f
 como sítios de ligação de outros compostos, 4-5
 carga líquida em pH neutro, 8
 catabolismo/degradação dos, 245, 249-253, 261-268, 261f
 formação de acetil-CoA no, 266-267, 266-267f
 formação de acetoacetil-CoA no, 266-267
 formação de α-cetoglutarato no, 250-252, 250f, 252f, 262, 263-264f
 formação de fumarato no, 263-264, 263-264f
 formação de oxalacetato no, 262, 262f
 formação de piruvato no, 263-264, 263-264f

- formação de succinil-CoA no, 263-266, 264-265f
no estado absoritivo/alimentado, 323-324f, 324-325
cetogênicos, **262**, 262f, 266-267
classificação dos, 2-3f, 2-6, 261, 262f
cl clinicamente importantes, 275f
como doadores de prótons, 5-6
como precursores de compostos nitrogenados, 277, 277f
como tampões, 6-9, 6-7f, 9f
conversão em produtos especializados, **277-290**, 277f
de cadeia ramificada, 326-327
catabolismo dos, 266-268
descarboxilação oxidativa dos, 266-267
desidrogenação dos, 266-268
transaminação dos, 266-267
desaminação oxidativa dos, 252-253, 252f
coenzimas na, 252, 252f
regulação alostérica da, 252
sentido das reações, 252
e secreção de glucagon, 313, 313f
e secreção de insulina, 310
esqueletos carbonados dos, 245, 250
catabolismo dos, **262-268**
essenciais, 261, 262f, 367, 433-434
estrutura dos, **1-6**, 1f
formas D e L dos, 5-6, 5-6f
glicogênicos, **261**, 262f, 266-267
grupo amino dos, 1, 1f, 4-5f, 7f, 8
grupo carboxila dos, 1, 1f, 4-5f, 7
interações hidrofóbicas de, 4-5, 19, 19f
interações iônicas em, 19, 19f
ligação ao RNA transportador sítio para, 433-434f, 434-435
ligações de hidrogênio nos, 4-5, 4-5f
ligações peptídicas em, 1, 1f, 13-14, 14f
livres, 1, 1f
mapa conceitual dos, 11f
metabolismo dos, 261f
ácido fólico e, **267-268**
defeitos metabólicos no, **270-274**
mapa conceitual para o, 275f
no estado absoritivo/alimentado, 323-324f, 324-327, 326-327f
na α -hélice, 16-17
na dieta, 245
na gliconeogênese, 118
na síntese proteica, 433-434
não essenciais, 261, 262f
síntese de, **267-269**, 268f
não polares, 2-5, 2f, 4-5f
localização nas proteínas, 2, 4-5, 4-5f
no estado absoritivo/alimentado, 321-322
polares sem carga, 3f, 4-5
pontes dissulfeto em, 4-5
propriedades acidobásicas dos, **6-7-9**
propriedades anfotéricas dos, 9
propriedades ópticas dos, 5-6, 5-6f
remoção do nitrogênio de, 245, **250-253**
no ciclo da ureia, 245f, 253-256, 253f, 254f, 255f
resíduos, 14
sequência de, 14-16
análise do DNA de, 15-16
determinação da, 14-15, 15f
no colágeno, 45, 45f
síntese *de novo* dos, 245
substituição de
na anemia falciforme, 36, 36f
na doença da hemoglobina C, 36f, 37
titulação de, 6-7f, 7-9, 8f, 9f
transaminação de, 245, 250-252, 250f, 251f
equilíbrio de reações de, 251
transporte para dentro das células, **249-250**
D-Aminoácido-oxidase, 253
Aminoácidos, conjunto de, 246, 246f
Aminoácidos apolares, 2-5, 2f, 4-5f
interações hidrofóbicas dos, 2, 19, 19f
localização nas proteínas, 2, 4-5, 4-5f
na mioglobina, 26
Aminoácidos de cadeia ramificada
absorção de, 249
catabolismo de, 266-268, 266-267f
degradação de, capacidade hepática limitada para, 324-325
descarboxilação oxidativa dos, 266-267
desidrogenação dos, 266-267
no estado absoritivo/alimentado, 326-327
transaminação dos, 266-267
Aminoácidos essenciais, 261, 262f, 367
na síntese proteica, 433-434
Aminoácidos livres, 1, 1f
Aminoácidos não essenciais, 261, 262f
biossíntese de, **267-269**
Aminoácidos polares
na mioglobina, 26
sem carga, 3f, 4-5
Aminoácidos polares desprovidos de carga, 3f, 4-5
Aminoacil-RNA-sintetase, 434-435, 434-435f, 437
 β -aminoisobutirato, 304
Aminopeptidases, 249
Aminotransferase dos α -aminoácidos de cadeia ramificada, 266-267
Aminotransferase(s), 250, 250f
em doenças não hepáticas, 252
especificidade quanto ao substrato, 250-251
mecanismo de ação, 251
nas doenças hepáticas, 251-252, 251f
valor diagnóstico das, 251-253, 251f
Aminoxidase, 257
Amital, 75-76f
Amniótico, fluido, como fonte de DNA, 476, 476-477f
Amônia
a partir da ação bacteriana no intestino, 257
a partir da glutamina, 256-257, 257f
a partir de aminas, 257
a partir de aminoácidos, 256
a partir de purinas e pirimidinas, 257
como produto do catabolismo de aminoácidos, 250, 253, 253f
eliminação como ureia, 253, 257, 257f
em doenças hepáticas, 257-258
fontes de, 256-257
metabolismo da, 245, **256-258**, 257f
níveis elevados de, 257-258, 257-258f
no jejum, 332
transporte até o fígado, 253, 253f
transporte na circulação, 257, 257f
Amoxicilina, 62
AMP, Proteína-cinase ativada por (AMPK), 223
na regulação da Acetil-CoA-carboxilase, 184, 184f
no jejum, 330
AMP. *Veja* Adenosina, monofosfato de
AMPc, via dirigida pelo
ativação da degradação do glicogênio pelo, 132-133, 133f
inibição da síntese de glicogênio pelo, 133-134, 133-134f
AMPc. *Veja* Adenosina monofosfato cíclico
Anabólicas, vias, 91, 93-94
como processo divergente, 93-94
vs. vias catabólicas, 93-94, 93-94f
Anabolismo, insulina e, 308
Anaeróbia, glicólise, 96-97, 96-97f, 101-104, 104f
produção de energia pela, 104, 104f
Analgésicos, para anemia falciforme, 36
Analisador de aminoácidos, 15, 15f
Análise do DNA, 15-16, 472-485, 484-485f. *Veja também métodos específicos*
forense, 481-483
técnicas para, 484-485f
Anapleróticas, reações, 109-110
Andrógenos, 237
secreção de, 239
Androide ou forma de maçã, 350-351, 350-351f
Androstenediona, 239
Anemia de Cooley, 39
Anemia falciforme, 4-5, 35-37, 41-42f
como causa de anóxia, 36, 37f
diagnóstico da, usando RFLP, 476-477, 478f
eletroforese na, 36, 36f
etnicidade e, 35
icterícia e, 284
mutação pontual no gene da β^m -globina causando a, 35, 37f
sondas oligonucleotídicas e, 471-472, 471-473f
substituição de aminoácidos na HbS e, 36, 36f
tratamento, 36, 297-298
vantagens seletivas do estado heterozigoto, 37, 38f
variáveis que aumentam a estrutura falciforme, 36
Anemia ferropriva, 374-375, 374-375f
Anemia hemolítica
deficiência de enzimas glicolíticas e, 101-103
deficiência de G6PD e, 152, 153
Anemia hemolítica não esferocítica, 103, 153
Anemia macrocítica, 374-375, 374-375f
Anemia megaloblástica, 267-268, 374-376, 393f
Anemia microcítica, 374-375, 374-375f
Anemia normocítica, 374-375f
Anemia perniciosa, 377, 393f
Anemia sideroblástica ligada ao X, 278-279
Anemia(s)
2,3-bisfosfoglicerato em, 31-32
deficiência de ácido fólico e, 374-376, 374-376f
deficiência de vitamina B12 e, 374-375, 374-376f
falciforme. *Veja* Anemia falciforme
ferropriva, 374-375, 374-375f
hemolítica
enzimas glicolíticas deficientes e, 101-103
na deficiência de G6PD, 153
macrocítica, 374-375, 374-375f
megaloblástica, 267-268, 374-376, 393f
microcítica, 374-375, 374-375f
normocítica, 374-375f
nutricional, 374-375, 374-375f
perniciosa, 377, 393f
Anemias nutricionais, 374-375, 374-375f
Anencefalia, 375-376
Anfólitos, 9
Anfotéricas, propriedades, dos aminoácidos, 9
Angiotensina I, 239
Angiotensina II, 62, 239
Anidrase carbônica, 29-30
Anômero, carbono, 84-85
Anóxia, na anemia falciforme, 36, 37f
Antibióticos
e deficiência de G6PD, 153
para a anemia falciforme, 36
tendo a DNA-girase como alvo, 401
tendo a síntese de RNA como alvo, 421, 422f

- Anticódon, 434-435
pareamento antiparalelo com o códon, 437, 437f
- Anticorpos marcados, 471-472
- Antigenicidade da superfície celular, 165, 165f
- Antígeno nuclear de proliferação celular, 406-407
- Antimaláricos, 153
- Antimicina A, 75-76f
- Antioxidante(s), 148-149, 377-378, 391
- Antioxidantes, enzimas, 148, 148f
- Antiparalelas, folhas β , 17, 17f
- Antiparalelo, pareamento, 433-434f, 437, 437f
- Antipiréticos, 153
- α_1 -Antitripsina (α_1 -AT)
deficiência de, 51f
no enfisema, 50
na degradação de elastina, 50, 50f
nos pulmões, 50, 50f
- AP-endonucleases*, 411-412
- Apetite, 352-353
- ApoB, 456-457f, 457-458
- ApoB48, proteína, 456-457f, 457-458
- Apoenzima, 54
- Apoferitina, 458-459
- Apolipoproteína B100, 189, 231
- Apolipoproteína B48, 177, 228
- Apolipoproteína CII, 231
- Apolipoproteína E, 231, 234
- Apolipoproteína(s)
classes de, 227
HDL como reservatório de, 234
síntese de, 228
- Apoproteína(s). *Veja*
Apolipoproteína(s)
- Apoptose, mitocôndria e, 80
- AraA, 408-409
- Arabinose, 408-409
- AraC, 408-409
- Araquidônico, ácido, 182, 182f, 183f, 363
na síntese de prostaglandinas, 213, 214, 215f
- Arginase*, 262
- Arginina, 5-6, 262
cadeia lateral da, 3f
catabolismo da, 262
clivagem em ornitina e ureia, 255
como substrato da óxido-nítrico-sintase, 151, 151f
em histonas, 409-410
na síntese de creatina, 287, 288f
no ciclo da ureia, 253-255, 254f
rompimento da α -hélice pela, 16-17
transporte da, 250
- Argininossuccinato
clivagem do, 255
no ciclo da ureia, 253-255, 254f
síntese do, 255
- Argininossuccinato-liase*, 254f
- Argininossuccinato-sintase*, 254f
- Argonauta* (Ago), 458-459
- Aromatase* (CYP19), 239
- Arsênico, envenenamento por, 101
mecanismo do, 111
- Arsênico pentavalente (arsenato), 101
- Arsenito, 111
- Artrite
crônica gotosa, 299
na alcaptonúria, 274
- Artrocentese, 301
- Ascorbato, 148
- Ashkenazi, judeus, doenças dos fosfolípidos nos, 208, 210-211
- Asiáticos, intolerância à lactose nos, 88
- Asma, 214
- Asparagina
cadeia lateral da, 3f, 4-5
metabolismo da, 262, 262f
síntese da, 268
- Asparaginase*, 262
- Asparagina-sintetase*, 268
- Aspartame, 272
- Aspartato (ácido aspártico), 5-6, 19f
cadeia lateral do, 3f, 5-6
grupo carboxila na, 5-6
como doador de prótons, 5-6
como fonte de átomos para o anel das pirimidinas, 302, 302f
como fonte de átomos para os anéis das purinas, 292, 293f
como produto do catabolismo de aminoácidos, 251
metabolismo do, 262, 262f
no ciclo da ureia, 253-255, 254f
produção de oxalacetato e, 113
rompimento da α -hélice por, 16-17
síntese de, 267-268, 268f
- Aspartato-aminotransferase* (AST), 250-253, 250f, 251f, 256
na icterícia, 284
valor diagnóstico da, 251-253
- Aspartato-transcarbamoylase*, 302
- Aspirina
como desacoplador, 79
efeito antitrombogênico, 214, 216f
- AST. *Veja Aspartato-aminotransferase*
- Ataxia, episódica, deficiência da *piruvato-desidrogenase* e,
- Aterosclerose, 219-220, 227
diabetes melito e, 345
homocisteína e, 263-264
patogênese da, 234, 235f
prematura, 232
- Aterosclerótica, placa, 234, 235f
- Atividade física. *Veja* Exercício
- Atorvastatina, 61, 61f, 224
- ATP, proteína ligadora de (ABC), 236
- ATP. *Veja* Adenosina, trifosfato de *ATPase*, 232
- ATP-citrato-liase*, 183, 186
- ATP-sintase* (*ATPase*), 78-79
- ATP-sintase*, complexo da, 73-74
- Atractilósideo, 79
- Autofosforilação, 312
- Autoglicosilação, 127
- Autoimune, ataque, no diabetes melito tipo 1, 338, 338f
- Avidina, 381, 471-472
- Azida sódica, 75-76f
- AZT (zidovudina), 408-409, 408-409f
- B**
- Baço, degradação do heme no, 282, 282f
- Bacteriófago lambda (λ), 468
- Balanco do nitrogênio, 368
- Barbitúricos, porfiria e, 280
- Barreira energética, nas reações, 55
- Barreira hematoencefálica, 327-328
- Barril β , motivo proteico, 18f
- Basal, membrana, colágeno na, 44-45
- Bases complementares, 397, 397f, 398f
- Bases nitrogenadas, nos nucleotídeos, 291-292, 291f
- Básicos, aminoácidos, 3f, 5-6
- B-DNA, 398, 399f, 459-460
- Beribéri, 379, 393f
- BH₄, 270-271
- Biblioteca de expressão, 471-472
- Bibliotecas de DNA, 468-470
complementar, 468-470, 468-469f
- Bibliotecas genômicas, 468-469
- Bicarbonato, sistema tampão, 9, 9f
- Bile, excreção de bilirrubina na, 283, 283f
- Biliar, ducto, obstrução do, e icterícia, 284
- Biliares, ácidos, **224-227**
circulação enteroepática dos, 225-226, 226f
colesterol como precursor dos, 219-220, 224
como agentes emulsificantes, 224
conjugados, 225
estrutura dos, 224, 224f
natureza anfipática dos, 224
primários, 224
síntese dos, 224, 225f
- Bilirrubina
captação pelo fígado, 282, 283f
como antioxidante, 282
concentração de, determinação da, 285
conjugada, 282-283, 283f, 285
drogas que deslocam a, 282
formação de, 282, 282f
metabolismo da, 282, 283f
não conjugada, 283, 285
níveis elevados, na icterícia, 284-285, 284f, 285f
reagente direta, 285
reagente indireta, 285
secreção na bile, 283, 283f
transporte da, 282
- Bilirrubina, diglicuronato, formação de, 282-284, 282f, 283f
- Bilirrubina-glicuroniltransferase*, 282
na icterícia neonatal, 285, 285f
- Biliverdina, 282
- Biocitina, 118
- Bioenergética, **69-82**. *Veja também* Energia livre
- Biologia molecular, dogma central da, 395, 395f
- Biotecnologia, **465-488**
análise da expressão gênica, **482-485**, 483-485f
animais transgênicos, **486**
- clonagem do DNA, **467-470**, 467-470f
- endonucleases de restrição, **465-466**, 465-467f
- polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição, **472-477**, **479**, 475-478f, 477, 479-480f
- reação em cadeia da polimerase, **477**, **479-483**, 480-483f
- sondas, **469-472**, 470-473f
- terapia gênica, **484-485**, 486f
- transferência de Southern, **472-473**, 474f
- Biotina, 265-266, **381**, 381f, 392-393f
como coenzima, 381
na carboxilação de acetil-CoA, 183
na carboxilação de propionil-CoA, 194, 195f
na carboxilação do piruvato, 105, 118
no transporte de ácido carbônico, 267-268
deficiência de, 381
em sondas de DNA, 471-472
estrutura da, 381, 381f
ingestão dietética de referência para a, 385f
- 1,3-bisfosfoglicerato, síntese de, 101
- 2,3-bisfosfoglicerato
e afinidade da hemoglobina por oxigênio, 28-32, 31-32f
e anemia falciforme, 36
em sangue transfundido, 31-32
hemoglobina depletada de, 31-32
ligação à desoxiemoglobina, 30-31, 30-31f
ligação da hemoglobina fetal ao, 33
na anemia, 31-32
na hipoxia, 31-32, 31-32f
síntese de, 30-31, 30-31f
em eritrócitos, 101
sítio de ligação ao, 30-31, 30-31f
- Bisfosfoglicerato-mutase*, 101
- Bomba de prótons, 77-78
- Bordetella pertussis*, 95-96
- Boro, Ingestão Dietética de Referência para, 358-359f
- Butirila, 186
- C**
- Cadeia transportadora de elétrons, **73-77**, 75f
acoplada ao transporte de prótons, 77-78, 78f
acoplada fortemente à fosforilação oxidativa, 77-78
citocromos na, 75f, 75-76
coenzima Q na, 75-76
desacoplamento da fosforilação, 78-79
formação de NADH e, 75, 75f
fosforilação do ATP na, 77-80
inibidores de sítios específicos, 75-76, 75-76f
liberação de energia livre durante a, 75-77

- NADH-desidrogenase na, 75, 75f
organização da, 73-74, 75f
reações da, 75-76, 75-76f
- Cadeias α , no colágeno, 43-45, 43f
precursores de (pró-cadeias α), 45, 46f
- Cadeias laterais
de aminoácidos, 1-6, 1f, 2-3f
 ácidas, 3f, 5-6
 apolares, 2-5, 2f, 4-5f
 localização nas proteínas, 2, 4-5, 4-5f
 básicas, 3f, 5-6
 como sítios de ligação para outros compostos, 4-5
 em ligações dissulfeto, 4-5
 hidrofílicas, 18
 hidrofóbicas, 18
 interações hidrofóbicas nas, 4-5, 19, 19f
 interações iônicas nas, 19, 19f
 ligações de hidrogênio nas, 4-5, 19, 19f
 polares, 3f, 4-5
 polares sem carga, 3f, 4-5
de porfirinas, 277-279
 distribuição de, 278-279, 278-279f
- Cadeias laterais polares, 3f
- Cadeias polipeptídicas, 431-432, 431-432f
 modificação pós-traducional de, 442-444, 442-443f
- CAG, códon, 433, 433f
- Caixa CAAT, 423, 423f
- Calcidiol, vitamina D, 386
- Cálcio
 como ativador
 da degradação de glicogênio, 131-132, 132f
 da isocitrato-desidrogenase, 112
 da piruvato-desidrogenase-fosfatase, 111
 e a vitamina D, 386, 388, 388f
 e ação no músculo, 131-132, 132f
 Ingestão Dietética de Referência para, 358-359f
 liberação de insulina e, 310
 na síntese de óxido nítrico, 151
 regulação pela calmodulina, 132, 132f
- Cálcio/fosfatidilinositol, sistema, 94
- Calcitriol, vitamina D, 386
- Cálculos biliares, 226-227, 226f
- Cálculos biliares de colesterol, 226, 226f
- Cálculos renais, 250
- Calmodulina
 e ação do cálcio, 132, 132f
- Calorímetro, 359-360
- Camundongos nocaute, 486
- Câncer. *Veja também* Medicamentos anticâncer
 defeitos no reparo de DNA e, 412-413
 dieta e, 361f
 luz ultravioleta e, 411-412
 obesidade e, 354
 telômeros e, 407-408
- Câncer de cólon, 410-411
- Câncer de cólon hereditário não polipoide (HNPCC), 410-411
- Captopril, 62
- Carbamato, 31-32
- Carbamino-hemoglobina, 31-32
- Carbamoil-fosfato, síntese de, 253-255, 254f, 302
- Carbamoil-fosfato-sintetase I (CPS I)*, 253-255, 255f
 deficiência de, 257-258f
 vs. CPS II, 302, 302f
- Carbamoil-fosfato-sintetase II (CPS II)*, 255
 vs. CPS I, 302, 302f
- Carboidrato(s), **83-90**
 classificação dos, **83-87**
 com grupo aldeído (aldoses), 83-84, 83-84f
 com grupo carbonila livre, 83-84
 com grupo cetona (cetoses), 83-84, 83-84f
 como componentes estruturais, 83-84
 complexos, 85-87
 dietéticos, 357-358, 357-358f, **365-367**
 classificação dos, 365-366
 conteúdo energético dos, 359-360, 359-360f
 efeito de poupança de proteínas, 369
 glicose sanguínea e, 366, 366f
 necessidade de, 367
 variações aceitáveis na distribuição dos, 360, 360f
 digestão dos, **86-88**
 na boca, 86-87, 87-88f
 no intestino delgado, 86-87, 87-88f
 por enzimas pancreáticas, 86-87, 87-88f
 por enzimas sintetizadas por células da mucosa intestinal, 86-88, 87-88f
 enantiômeros, 84-85, 85-86f
 epímeros, 83-85, 84-85f
 estrutura dos, **83-87**
 funções dos, 83-84
 isômeros, 83-85, 84-85f
 ligações glicosídicas com compostos não glicídicos, 84-86, 85-86f
 ligações glicosídicas entre, 83-84, 84-85f
 metabolismo dos,
 glucagon e, 314
 insulina e, 310, 311
 no estado absorvivo/alimentado
 cerebral, 327-328, 327-328f
 hepático, 322-325, 323-324f
 no músculo esquelético, 326-327, 326-327f
 no tecido adiposo, 325-326, 325-326f
 no jejum, 329-330, 330f, 331-332, 331-332f
 nas glicoproteínas, 165-166
- nos glicosfingolipídeos, 208
 simples, fórmula empírica para, 83-84
- Carbomonoxiemoglobina (HbCO), 31-32
- Carbonados, esqueletos, catabolismo dos, **262-268**
- Carbonados, esqueletos, dos aminoácidos, 245, 249
- Carbonila, grupos, 4-5f
- Carboxiemoglobina, 31-32
- γ -Carboxiglutamato, 389, 389f
- Carboxila, grupo, 1, 1f, 11f
 adição a proteínas, 442-443, 443-444f
 dissociação do, 7, 7f
 ligação peptídica a um grupo amino, 13, 14f
- β -Carboxila, 268
- γ -Carboxila, 268
- Carboxilação
 da acetil-CoA, 183-184, 184f
 de proteínas, 443-444, 443-444f
 do glutamato, 389, 389f
 do piruvato, 105, 106f, 118-119, 119f
- Carboxilases, deficiência múltipla de, 381
- Carboxilato, grupo, 5-6
- Cardíaco, ataque. *Veja* Infarto do miocárdio
- Cardiolipina, 202, 202f
 síntese de, 206
- Cardiovascular, doença, homocisteína na, 263-266
- Carga glicêmica, 366
- Cariotipagem, 476
- Carnitina
 deficiências de, 192
 congenitas, 192
 secundárias, 192
 fontes de, 191
 funções da, 190-191
 na oxidação de ácidos graxos, 190-192, 191f
- Carnitina-acilcarnitina-translocase*, 191
- Carnitina-aciltransferase I (CAT I)*. *Veja Carnitina-palmitoiltransferase I*
- Carnitina-palmitoiltransferase I (CPT-I)*, 191
 deficiência de, 192
- Carnitina-palmitoiltransferase II (CPT-II)*, 191, 192
 deficiência de, 192
- β -caroteno
 como antioxidante, 149, 377, 382
 para porfirias, 282
- Caspases, 80
- Catabolismo, vias do, 91, 93-94, 93-94f
 como um processo convergente, 93-94
 conversão de blocos constitutivos em intermediários simples, 93-94, 93-94f
 estágios do, 91, 93-94, 93-94f
 hidrólise de moléculas complexas no, 93-94, 93-94f
- oxidação de acetil-CoA no, 93-94, 93-94f
 vs. vias anabólicas, 93-94, 93-94f
- Catabolismo. *Veja também vias específicas*
 dos aminoácidos, 245, 249-253, 261-268, 261f
 dos aminoácidos de cadeia ramificada, 266-268, 266-267f
- Catalase*, 25, 150, 195, 277
- Catarata, 141, 345
- Catecolamina(s), 285-287
 degradação das, 286, 286f
 funções das, 285
 inibidores da monoaminoxidase, 286-287, 286f
 síntese das, 270f, 285-286, 286f
- Catecol-O-metiltransferase (COMT)*, 286, 286f
- Cauda poli-A, do RNAm, 426, 426f
- CDP, na síntese de fosfolipídeos, 203, 203f
- CDP-colina, 203, 203f
- CDP-etanolamina, 203, 203f
- Cefalosporinas, 390
- Cefamandol, 390
- Cefoperazona, 390
- Cegueira, vitamina A e, 384-385, 385f
- Cegueira noturna, 384, 393f
- Celecoxibe, 214
- Célula(s)
 comunicação entre, 94, 94f
 senescência nas, telomerase e, 407-408, 407-408f
 sinais dentro das, 94
- Células α , 313
- Células β , 307, 308f
 destruição, no diabetes melito tipo 1, 338
 fosforilação da glicose nas, 98-99
 perda de função, no diabetes melito tipo 2, 341, 343-344
 secreção de insulina pelas, 307-309, 309f, 310f
- Células espumosas, 234, 235f
- Células F, 33
- Células NK (*natural killer*), 301
- Células parietais, 248, 377
- Células principais, 248
- Celulose, 84-85
- Centro ferro-enxofre, da *NADH-desidrogenase*, 75, 75f
- Ceramida(s), 203f, 206, 208
- Ceramidase*, 208
- Cerebrocan, 158
- Cerebrosídeos, 208-209
- α -cetoácido(s), 118
 como precursores gliconeogênicos, 117-118
 como produtos da desaminação oxidativa, 252-253
 como produtos da transaminação, 250-252
 no catabolismo dos aminoácidos, 245
 síntese de aminoácidos não essenciais a partir de, 267-268, 268f
- α -cetoácido-desidrogenase, 147

- Cetoacidose, diabetes tipo 1 e, 338-339
 Cetoacidose alcoólica, 318
 Cetoacidose diabética, 197, 197f, 339
 3-Cetoacil-ACP-redutase, 186
 3-Cetoacil-ACP-sintase, 184
 β -Cetoacil-CoA-tiolase, 192f
 α -Cetobutirato, 265-266
 Cetoexocinase. *Veja* Frutocinase
 Cetogênese, 196, 196f, 197f
 no jejum, 330-332
 Cetogênicos, aminoácidos, **262**, 262f, 266-267
 α -cetoglutarato
 descarboxilação oxidativa do, 112, 112f
 tiamina e, 379, 379f
 formação do
 a partir de aminoácidos, 262
 no catabolismo de aminoácidos, 250-252, 250f, 252f
 na gliconeogênese, 118
 no ciclo do ácido cítrico, 111f, 112, 112f
 no jejum, 332
 α -cetoglutarato-desidrogenase, complexo da, 111-112, 111f, 114, 114f, 147, 266-267
 tiamina pirofosfato como coenzima para a, 378f, 379, 379f
 Cetólise, 196-197
 Cetonemia, 197
 Cetonúria, 197
 Cetose
 no diabetes melito tipo 1, 339
 no diabetes tipo 2, 344
 Cetoses, 83-84, 83-84f
 Chaperonas, 20, 23f
 Chargaff, regra de, 397
 Chave grega, motivo proteico, 18f
 Chumbo, inibição não competitiva de enzimas por, 61-62
 Cianocobalamina, 375-376, 376-377f
 Cianogênio, brometo de, 16f
 Cianose chocolate, 38
 Ciclinas, 406-407
 Ciclo celular eucariótico, 405-407, 406-407f
 Ciclo da glicose-alanina, 253
 Ciclo da ureia, 92f, 245f, **253-256**
 deficiência no, 257-258, 257-258f
 eliminação de amônia pelo, 253, 256-258
 estequiometria geral do, 255-256
 reações do, 253-255, 254f
 regulação do, 255f, 256
 Ciclo de Cori, 118, 118f
 Ciclo do ácido cítrico, 92f, 93-94, **109-116**, 109-110f
 como via aeróbica, 109-110
 função do, 107, 115f
 intermediários do, produzidos pelo catabolismo de aminoácidos, 262-264
 mapa conceitual para, 115f
 na produção de ATP, 109-110, 113, 113f, 114f
 passos limitantes da velocidade, 112
 produção de energia pelo, 113-114, 113f
 reações do, **109-113**
 regulação do, **114**, 114f, 115f
 por ativação e inibição de atividades enzimáticas, 114, 114f
 por disponibilidade de ADP, 114
 Ciclo dos ácidos tricarboxílicos. *Veja* Ciclo do ácido cítrico
 Ciclo enteroepático do urobilinogênio, 283-284, 283f
 Ciclo jejum/alimentado, **321-336**. *Veja também* Jejum, Estado alimentado, mapa conceitual para, 335f
 Cicloxigenase dos ácidos graxos (COX), 213
 Cinases dependentes de ciclinas (Cdk), 406-407
 Cintura, tamanho da, na obesidade, 349-350
 Cintura/quadril, razão, na obesidade, 349-350
 Ciprofloxacina, 401
 Circulação enteroepática, 225-226, 226f
 Cirrose
 alcoólica, 318
 deficiência de α 1-antitripsina e, 50, 51f
 icterícia na, 284
 níveis de amônia na, 257-258
 Cirurgia, para redução de peso, 355
 Cistationina β -sintase, 273
 deficiência de, 265-266, 273
 Cistationinúria, 268f, 269f
 Cisteína, 4-5
 cadeias laterais da, 3f, 4-5
 catabolismo da, 263-264
 grupo sulfidril na, 18f, 19
 pontes dissulfeto da, 18f, 19
 síntese de, 265-266, 268
 Cistina
 catabolismo da, 263-264
 pontes dissulfeto na, 4-5, 18f, 19
 transporte da, 250
 Cistinose, 249
 Cistinúria, 249f, 250, 268f
 Citidina, 292, 292f
 Citidina, trifosfato de (CTP)
 reação do NANA com, 160
 síntese de, 303, 303f
 Citocromo a + a₃, 75-76
 Citocromo b, 75-76, 75-76f
 Citocromo c, 25, 25f, 80
 Citocromo P450 (CYP), 279
 Citocromo P450 (CYP), oxidase de função mista, 237
 Citocromo P450, sistema monooxigenase do, 149-150, 149f
 microssomal, 149-150
 mitocondrial, 149
 Citocromo(s)
 na cadeia transportadora de elétrons, 75f, 75-76
 Citocromo-oxidase, 75-76
 Citoplasma, síntese de colesterol no, 220
 Citosina, 291, 291f, 292f, 305f
 dano e reparo, 411-412, 412-413f
 nos códons/código genético, 431-432, 432f
 pareamento com a guanina, 397, 397f, 398f
 Citosina arabinosídeo (citarabina, araC), 408-409, 408-409f
 Citosol, 54f
 síntese de colesterol no, 220
 síntese de porfirinas no, 278-279
 transferência de acetil-CoA para o, 183, 183f
 transporte de oxalacetato para o, 119, 119f
 Citrato
 inibição da fosfofrutocinase pelo, 99, 112
 isomerização do, 111f, 112
 na síntese de ácidos graxos, 183
 síntese de, a partir de acetil-CoA e oxalacetato, 111-112, 111f
 translocação da mitocôndria para o citosol, 183
 Citrato de sildenafil, 151
 Citrato-sintase, 111, 114, 114f
 Citrulina, 257
 na síntese de óxido nítrico, 151, 151f
 no ciclo da ureia, 255
 CK. *Veja* creatina-cinase
 CK2 (MB) isoenzima, 66
 Clatrina, na endocitose, 232, 233f
 Clindamicina, 441f
 Clivagem, 442-443, 442-443f
 Clonagem, 465-466, 465-466f
 Clonagem, DNA, 465-466, 465-466f, **467-470**, 468f
 bibliotecas de, 468-470
 sequenciamento de fragmentos na, 469-470, 470-471f
 vetores, 467-468, 469-470f
 expressão de, 469-470, 469-470f
 plasmídeos, 467
 Cloranfenicol, 153, 440f
 CMP-ácido-N-acetilneuramínico, 166
 CMP-NANA-sintetase, 160
 Coagulação, vitamina K e, 389, 390f
 Coagulação sanguínea, prostaglandinas e, 214
 Coagulação sanguínea, vitamina K e, 389, 390f
 Coativadores, 423
 Cobalamina, 264-265, **375-377**. *Veja também* Vitamina B₁₂
 Cobre, Ingestão Dietética de Referência para o, 358-359f
 Código genético, **431-434**
 características do, 432-433
 degenerado, 432f, 433
 especificidade do, 432
 para a tradução de códons, 431-432, 432f
 redundância do, 433
 sem sobreposições e contínuo, 433
 universalidade do, 432, 432f
 Códon de iniciação, 437-438f, 438-439
 Códons, 431-432, 432f
 de iniciação, 437-438f, 438-439
 de terminação (de término ou sem sentido), 432, 432f
 mutações em, 432f, 433-434, 433-434f
 pareamento antiparalelo com o anticódon, 437, 437f
 reconhecimento por RNA transportador, **437**, 437f
 tradução de, 431-432, 432f
 Códons de término, 432
 Códons sem sentido (de término), 432
 Coeficientes de sedimentação, dos ribossomos, 436
 Coenzima (s), 54. *Veja também* enzimas específicas
 niacina como, 380
 no complexo da piruvato-desidrogenase, 110-111
 vitamina B12, 375-377, 376-377f
 vitamina C como, 377
 Coenzima A, 110-111, 112, 381, 381f
 Coenzima Q (CoQ), 75-76
 Cofatores, 54
 Colagenases, 48
 Colágeno, **43-49**
 associação de fibrilas no, 44-45
 biossíntese de, 45-48, 46-48f, 51f
 cadeias α do, 43-45, 43f
 precursores de (pró-cadeias α), 45, 46f
 clivagem extracelular das moléculas de pró-colágeno, 47-48
 degradação do, 48
 doenças do, 48-49, 48f, 49f, 51f
 estrutura do, 43, 43f, 45, 51f
 fibrilas que formam o, 44-45
 formação de fibrilas, 47-48f, 48
 formação de redes no, 44-45, 45f
 função do, 43
 glicosilação no, 45, 46f, 47-48
 hidroxilação no, 45, 45f, 46f, 47-48
 hidroxilisina no, 45, 45f, 46f, 47-48
 hidroxiprolina no, 45, 45f, 46f, 47-48
 ligações cruzadas no, 45, 48, 48f
 mapa conceitual para o, 51f
 modificações pós-traducionais, 45
 papéis estruturais, 43
 precursores polipeptídicos, 45-48
 propriedades mecânicas do, 43
 reunião das cadeias do, 47-48
 secreção do, 47-48
 sequência de aminoácidos no, 45, 45f
 sequência sinalizadora para, 45
 tipo I, 43-45, 44-45f
 tipo II, 43-45, 44-45f
 tipo III, 44-45, 44-45f
 mutações e síndrome de Ehlers-Danlos, 48
 tipo IV, 44-45, 44-45f
 tipo IX, 44-45, 44-45f

- tipos de, 43-45, 44-45f
 tipo VII, 44-45, 44-45f
 tipo XII, 44-45, 44-45f
 tripla-hélice do, 43f, 45, 46f
 vitamina C e, 47-48, 47-48f
- Colágeno formador de redes, 44-45, 44-45f
- Colchicina, 301
- Colecalciferol (vitamina D₃), 386, 386f
- Colecistectomia laparoscópica, 226
- Colecistocinina (CCK), 176, 248 e obesidade, 310, 353
- Colelitíase, 226-227, 226f
- Colestanol, 224
- Colesterol, 219-224**
 absorção por células da mucosa intestinal, 176
 como composto hidrofóbico, 219-220
 como precursor da vitamina D, 219-220
 como precursor de ácidos biliares, 219-220
 conversão a pregnenolona, 238, 238f
 degradação do, **224**
 deposição de (placas), 219-220 e doença cardíaca coronariana, 360-361, 361f, 364-365, 364f
 em lipoproteínas no plasma, 219-220, 227, 227f
 endocitose do, 232, 233f
 efeitos sobre a homeostase celular, 232-234
 esterificação do, 234-235
 estrutura do, **219-220**, 220f, 237f
 excreção do, 224
 funções do, 219-220
 mapa conceitual para o, 243f
 metabolismo do, **219-224**
 na dieta, 219-220, 364, 364f
 na obesidade, 353
 na síntese de hormônios esteroides, 237-238
 não esterificado, captação pela HDL do, 234, 236f
 nas lipoproteínas, 219-220, 227, 228f, 232f
 de alta densidade, 232f
 de baixa densidade, 231-234, 232f
 de densidade muito baixa, 232f
 no plasma, 220, 360-361, 361f
 doença cardíaca coronariana e, 360-361, 361f
 regulação hepática do, 219-220, 219-220f
 sais biliares e excreção do, 225
 síntese *de novo* do, 219-220
 síntese do, **220-224**, 220-222f
 passo limitante da velocidade, 220-221, 220-221f
 regulação da, 223
 terapia para redução dos níveis de, 61, 61f, 220, 224, 224f, 361, 380
 transporte reverso do, 235-236, 236f
- Colesterol, complexo enzimático de clivagem da cadeia lateral do (desmolase)*, 237
- Colesterol-7- α -hidroxilase*, 224, 225f
- Colesterol-ester-hidrolase (colecsterol-esterase)*, 175
- Colestiramina, 225
- Colina
 como nutriente essencial, 203-204
 Ingestão Dietética de Referência para a, 257-258f
 reutilização da, significância da, 203-204
 síntese de fosfatidilcolina e, 203-204
- Colipase, 175
- Colorimétricos, testes, 85-86
- Compartimentalização, de enzimas, 55
- Compartimento de desligamento do receptor e ligante, 232
- Complementar, bibliotecas de DNA (DNAC), 468-470, 468-469f
- Complexo enzima-produto, 54
- Complexo enzima-substrato (ES), 54
- Complexo pré-iniciador, para a replicação do DNA, 399, 403
- Complexo silenciador induzido por RNA (RISC), 458-459
- Comportamentais, fatores, na obesidade, 352
- Compostos nitrogenados, aminoácidos como precursores de, 277, 277f
- Comunicação intercelular, 94, 94f
- Comunicação intracelular, 94, 94f, 205-206, 205f
- Concentração de substrato e velocidade da reação, 57, 57f
 equação de Michaelis-Menten para a, 58-59, 58f, 59f
 no estado absorvivo/alimentado, 321-322, 321-322f
 no jejum, 329-330
- Condrodistrofias, 162
- Condroitin sulfatos, 158, 159f
 degradação, 163
 síntese, 162, 163f
- Condroitina, 163
- L-configuração, dos aminoácidos, 5-6, 5-6f
- Configuração D dos aminoácidos, 5-6, 5-6f
- Conformação nativa, de proteínas, 23f
- Conjugação, 282
- Constante de dissociação do grupo amino, 7f, 8
 do grupo carboxila, 7, 7f
- Constante de equilíbrio (K_{eq}), relação com variação padrão de energia livre (ΔG°), 71-72
- Consumo calórico, 365, 365f
- Controle combinatório da transcrição, 454-455, 454-455f
- Cooperatividade, de sítios de ligação enzimáticos, 62-63
- Coproporfirina hereditária, 280, 281f
- Coproporfirina, 277
- Coproporfirinogênio III, 279f
- Coproporfirinogênio oxidase*, 281f
- Coprostanol, 224
- Coração. *Veja também* Músculo cardíaco
 consumo de lactato no, 103
- Corcunda, aspecto de, na osteogênese imperfeita, 49
- Córnea, colágeno na, 43
- Corpos cetônicos, 118, **195-197**
 glucagon e, 314
 no jejum, 330-332, 330f
 produção excessiva, no diabetes melito, 197, 339
 síntese pelo fígado, 196, 196f, 197f
 utilização pelo encéfalo, 195, 327-328, 332, 332f
 utilização pelos tecidos periféricos, 196-197, 197f
- Corte-junção, 426
 alternativo, 456-457, 456-457f
 escolha do sítio para o, 456-457
 mecanismo para o, 427, 427f
- Corte-junção, mutações, 427, 433-434
- Córtex adrenal, síntese do colesterol no, 220
- Corticosteroides, 237, 237f
- Corticosteroides, globulina ligadora de, 237
- Cortisol, 237, 237f
 ação do, 240f
 e regulação da transcrição, 455-456
 inibição da síntese de prostaglandinas por, 214
 na hipoglicemia, 315f, 316
 secreção de, 239
- Cosmídeos, 468
- Cossustratos, 54
- Cotransporte de glicose com sódio, 97-98
- COX-1, 213, 214, 216f
- COX-2, 213, 214
- Creatina, 287-288
 degradação da, 287-288
 síntese da, 287, 288f
- Creatina-cinase (CK)*, 65, 65f
 na síntese de creatina, 287
- Creatina-fosfato, 287, 288f
- CREB. *Veja* Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc
- Crescimento, vitamina A e, 384
- Creutzfeldt-Jacob, doença de, 22, 23f
- Críglér-Najjar, síndrome de, I e II, 282
- Cristas, da mitocôndria, 73-74
- Cromatina, 422, 459-460
 condensada (heterocromatina), 422, 459-460
 estrutura da, 422
 expressão gênica, 422
 relaxada (eucromatina), 422
 remodelamento, 422, 423, 459-460
- Cromo, Ingestão Dietética de Referência para o, 358-359f
- Cromossomo(s)
 traçando cromossomos de pais para filhos, 475-476
- Cromossomos artificiais bacterianos, 468
- Cromossomos artificiais de leveduras (YACs), 468
- D**
- Dactinomicina, 397, 421
- D-Açúcares, 84-85, 84-85f
- dATP, 404
- dCTP, 404
- Débito de oxigênio, 104
- Dedos de zinco, motivos em, 18, 423, 450, 450f
- Deficiência de lipase lipoproteica familiar, 178, 229
- Degeneração, 433
- Degeneração macular relacionada à idade (DMRI), 458-460
- Degradação de Edman, 15, 15f
- Dermatan sulfato, 159f, 163
- Dermatite escamante, 182
- Desacopladoras, proteínas (UCP), 79
- Desacopladores sintéticos, 79
- Desaminação oxidativa
 coenzimas na, 252, 252f
 de aminoácidos, 245, 252-253, 252f
 regulação alostérica da, 252
 sentido da reação, 252
- Descarboxilação
 da histidina, 287, 287f
 do isocitrato, 112
 do oxalacetato, 119f, 120
 do oxalacetato citosólico, 119f, 120
- Descarboxilação oxidativa de aminoácidos de cadeia ramificada, 266-267
 tiamina e, 379f
- do α -cetoglutarato, 112, 112f
 tiamina e, 379, 379f
- do piruvato, 105, 109-111, 110-111f
- Desfosforilação
 da Acetil-CoA-carboxilase, 183-184
- da frutose 1,6-bisfosfato, 120-121, 120f
- da glicose 6-fosfato, 121, 121f
- da hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA)-redutase, 223, 223f
- da piruvato-cinase, 101-102
- de enzimas, 63, 63f
- de proteínas, 95-96
- independente de esteróis, 223, 223f
- 7-Desidrocolesterol*, 386, 386f
- 7-Desidrocolesterol-7-redutase*, 220-221
- Desidroepiandrosterona, 239
- Desidrogenação, de aminoácidos de cadeias ramificadas, 266-267
- Desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada*, 111, 272-273
- deficiência de, 266-267
- Desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada, complexo da*, 266-267
- Desmolase*, 237, 238

- Desmosina, ligações cruzadas, na elastina, 49, 49f
- Desnaturação
de enzimas, 57
de proteínas, 20, 23f, 469-470
do DNA, 397-398, 398f
- Desnutrição calórico-proteica, 369
- 5'-Desoxiadenosilcobalamina, 375-376, 376-377f
- Desoxiadenosina, 292f
- Desoxiemoglobina, 27-28
- Desoxirribonucleases, 397
- 5'-Desoxirribonucleosídeo, trifosfato de, 404
- Desoxirribonucleosídeo fosfato, 291. *Veja também* Nucleotídeo(s)
- Desoxirribonucleosídeos, trifosfato de (dNTPs), 469-470
na reação em cadeia da polimerase, 481-482
- Desoxirribonucleotídeos
síntese de, **296-298**, 296-297f
regulação da, 296-298, 297-298f
- 2-Desoxirribose, 292, 292f
- Desoxirribose-fosfato, esqueleto de, no DNA, 396-397, 396f, 397f
zigue-zague do, 398, 399f
- Desoxirribose-fosfato-liase*, 411-412
- Desoxitimidina, 292
- Destoxificação, no sistema *citocromo-P450-monooxigenase*, 149
- Dextrinas limite, 128, 129f
- dGTP, 404
- Diabetes da maturidade (tipo 2)
em jovens, 99
- Diabetes gestacional, 338, 342
- Diabetes melito, **337-348**
efeitos crônicos e prevenção de, **344-346**
excesso de corpos cetônicos no, 197
hemoglobina A1C e, 340, 340f, 346, 346f
mapa conceitual para o, 347f
metabolismo do sorbitol e, 345
nutrição e, 361f
tipo 1 (dependente de insulina), 397, 337, **338-341**, 347f
alterações metabólicas no, 338-340, 338f
ataque autoimune no, 338, 338f
determinante genético para, 338, 338f
diagnóstico de, 338
estímulo ambiental para, 338, 338f
relações entre tecidos, 338-339, 339f
tratamento de, 340-341, 340f vs. jejum, 340
tipo 2 (não dependente de insulina), 337, **341-344**, 347f
alterações metabólicas no, 344, 344f
determinação genética para o, 338
em crianças, 337
exercício e risco de, 345-346, 346f
- incidência e prevalência de, 337
- obesidade e, 342, 342f
- progressão dos níveis de glicose e insulina no, 342-344, 342f, 343f
- progressão típica do, 341-342, 344f
- relações entre tecidos e, 344, 345f
- tratamento do, 344
tipo 1 vs. tipo 2, 337f
- Diacilglicerol (DAG), 189f
ativação do, 203, 203f
na síntese de fosfolípidos, 201
na transmissão de sinal, 205-206
- Diacilglicerol aciltransferase*, 176, 177f
- Diagnóstico pré-natal, 476-477, 479
da anemia falciforme, 476-477, 478f
da fenilcetonúria, 476-477, 479, 477, 479-480f
da fibrose cística, 482-483, 482-483f
fontes de DNA para, 476, 476-477f
métodos, 476
- Diarreia osmótica, 87-88
- Diastereoisômeros, 84-85
- Dicer*, 458-459
- Dicumarol, 389
- 2'3'-Didesoxi-inosina (didanosina, ddl), 408-409, 408-409f
- Didesoxirribonucleosídeos, trifosfato de (ddNTPs), 469-470
- 2,4-Dienoil-CoA-redutase dependente de NADPH*, 195
- Dieta, para redução de peso, 354
- Dieta. *Veja* Nutrição
- Dieta com baixo teor de gorduras, 362f
- Dieta mediterrânea, 362, 362f
- Dieta ocidental, 362f
- Di-hidrobiopterina, 268
deficiência de, 270f
- Di-hidrofolato (DHF), 303
- Di-hidrofolato-redutase*, 267-268, 459-460
inibição da, 293, 294f, 303, 375-376
- Di-hidrolipoil-desidrogenase*, 110-111, 110-111f
- Di-hidrolipoil-transacetilase*, 110-111, 110-111f
- Di-hidro-ototase*, 302
- Di-hidro-ototato-desidrogenase*, 302
- Di-hidropteridina (BH₂) redutase*, 270-271, 270f
- Di-hidropteridina (BH₂) sintase*, 270-271, 270f
- Di-hidrouretil, 292f
- Di-hidrouridina, 425f
- Di-hidroxiacetona, 83-84, 83-84f
- Di-hidroxiacetona fosfato (DHAP), 117, 189
isomerização da, 101
no metabolismo da frutose, 138
- 1,25-Di-hidroxicolecalciferol, 240, 382, 386
- 3,4-Di-hidroxi-fenilalanina (DOPA), 285-286, 286f
- N⁶,N⁶-Dimetiladenina, 292f
- 3,3-Dimetilalilpirofosfato (DPP), 220-221
- 2,4-Dinitrofenol, 78f, 79
- 1,25-DiOHcolecalciferol (calcitriol), 389
- Dióxido de carbono
adição de. *Veja* Carboxilação
como fonte de átomos para o anel das pirimidinas, 302, 302f
como fonte de átomos para os anéis das purinas, 292, 293f
concentração de, e afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, 29-30
ligação de, e afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, 31-32
na via das pentoses-fosfato, 145-146
pressão parcial de. *Veja* pCO₂
produção no ciclo do ácido cítrico, 114f
remoção do. *Veja* Descarboxilação
- Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), 203-204, 208
- Dipeptídeos, absorção de, 249
- Dipolar, forma, de aminoácidos, 7, 7f
- Disbetalipoproteinemia familiar, 178, 231
- Dislipidemia. *Veja também* Hiperlipidemia/Hiperlipoproteinemia
obesidade e, 353
- Dissacarídeses*, 86-87
- Dissacarídeos, 83-84, 84-85f, 85-86
degradação anormal de, 87-88
digestão de, 86-88
metabolismo dos, **137-144**
na dieta, 365
nos glicosaminoglicanos, 157-158, 157-158f
- Dissociação do oxigênio, curva de, para a hemoglobina, 28-29, 28-29f, 30-31
2,3-bisfosfoglicerato e, 31-32, 31-32f
forma sigmoide da, significado da, 29-30
para a mioglobina, 28-29, 28-29f
- Dissulfiram, 317
- Distrofia miotônica, 433, 433f
- Distrofia muscular, 486
- Distrofia muscular de Duchenne, 460-461
- Distrofina, gene da, 486
- DNA, "Impressões digitais" de, 481-483
- DNA, **395-416**
alongamento da cadeia do, 403-405, 403f
análogos de nucleosídeos, inibição por, 407-409, 408-409f
anelamento, na reação em cadeia da polimerase, 480-482
bases do, 396-397, 396f
alteração das, 409-413
- anormais, remoção das, 411-412, 411-412f
- incomuns, 291-292, 292f
- ligações de hidrogênio entre, 397, 398f
- pareamento de, 396-397, 396f
- perda espontânea de, 409-413
- pirimídicas, 291, 291f, 305f
- púricas, 291, 291f, 305f
- como molde para o RNA, 417. *Veja também* RNA, transcrição do,
- de fita única (viral), 396
- de ligação, 409-410, 409-410f
- desnaturação do, 397-398
na reação em cadeia da polimerase, 480-481
- dupla-fita, 396
- dupla-hélice de, 397-398, 397f
antiparalela, 397, 397f
eixo de simetria para a, 397, 397f
forma A da, 398
forma B da, 398, 399f
forma Z da, 398, 399f
formas estruturais da, 398, 399f
natureza complementar da, 397, 397f, 398f
pareamento de bases na, 397, 397f
regras de Chargaff para, 397
separação das fitas na, 397-398
sulco maior da, 397, 397f
sulco menor da, 397, 397f
- edição do, 404-405, 404f
- estrutura do, **396-398**, 414f
- eucariótico
organização do, **408-410**, 408-410f
replicação do, **405-409**, 414f
- fluxo de informação a partir do, 395, 395f
- forma B do, 459-460
- forma Z do, 459-460
- lesão por ultravioleta, 411-412, 411-412f
- ligações 3'→5' fosfodiéster do, 396-397, 396f
- mapa conceitual para o, 414-415f
- nucleoide, 398
- para a transcrição em eucariotos, 422
- plasmídeo, 398
- polaridade do, 396
- procariótico, 395
replicação do, **399-406**
Veja também Procariótico, DNA
- quebras da dupla-fita, reparo de, 411-413
- regulação da expressão gênica por modificações do, 459-461, 459-461f
- renaturação (reanelamento), 398
- reparo do, **409-413**, 415f
excisão de bases, 411-412, 412-413f

- junção de extremidades não homólogas, 412-413
pareamento inadequado devido à metilação (excisão de nucleotídeos), 410-412, 410-411f
quebras da dupla-fita, 411-413, 412-413f
recombinação homóloga, 412-413
sequências regulatórias no, **449-450**
temperatura de fusão do, 397-398, 398f
variações no, resultando em polimorfismos de comprimento do fragmento de restrição, 475, 475f, 476f
- DNA, fragmentos de
clonados, sequenciamento de, 469-470, 470-471f
extremidades adesivas, 466, 466f
união de (DNA recombinante), 467f
extremidades retas, 466, 466f
hibridização de sondas para, 469-470
- DNA, hibridização do, 475
DNA, motivos de ligação ao, 423
DNA, sítio de ligação ao, 450, 450f
DNA complementar (DNAC), 483-484
DNA eucariótico, 399, 400f
alongamento da cadeia do, 403-405, 403f
organização do, **408-410**, 408-410f
replicação do, **405-409**
inibição terapêutica da, 407-409, 408-409f
- DNA-helicases*, 400, 400f, 405-406
DNA-topoisomerasas do tipo I, 401, 401f
DNA-topoisomerasas do tipo II, 401, 401f
DnaB, 400
DnaC, 400
DNAC, 468-469
DnaG, 402
DNA-girase, 401
DNA-ligase, 405-406, 405-406f
e endonucleases de restrição, 466
no reparo do DNA, 411-412
DNA-polimerase I, 405-406, 405-406f
no reparo do DNA, 410-411
DNA-polimerase III, 403-404, 404f, 405-406
na edição, 404-405, 404f
no alongamento da cadeia, 403-405, 404f
- DNA-polimerase(s)*, 421
3'→5', na edição do DNA, 404f, 405
5'→3', *DNA-polimerase*, 404-405, 404f
eucariótica, 406-407, 406-407f
na reação em cadeia da polimerase, 479-482
- no alongamento da cadeia, 403-404, 404f
no reparo do DNA, 410-412
no sequenciamento de fragmentos clonados de DNA, 469-470, 470-471f
- DNA-topoisomerase (s)*, 401
tipo I, 401, 421
tipo II, 401
- Doadores de elétrons, 73-76
Doadores de prótons, aminoácidos como, 5-6
Dobraduras β , 17
Doença arterial coronariana (DAC), 219-220
Doença cardíaca
colesterol plasmático e, 360-361, 361f
consumo de álcool e, 364-365
gorduras da dieta e, 360-364
isoenzimas e, 66, 66f
lipoproteínas e, 237
proteína da soja e, 364
triacilgliceróis e, 361-364
Doença cardíaca coronariana
consumo de álcool e, 364-365
gorduras da dieta e, 360-361, 361f
lipídeos plasmáticos e, 360-361, 361f
proteína de soja e, 364
triacilgliceróis e, 361-362
Doença celíaca (espru celíaco), 249
Doença da célula I, 169
Doença da hemoglobina C, 36f, 37
Doença da hemoglobina H, 39, 39f
Doença da hemoglobina S. *Veja* Anemia falciforme
Doença da hemoglobina SC, 38
Doença da imunodeficiência combinada grave (ICG, ou SCID)
ligada ao X, 484-485
terapia gênica para a, 484-485, 486f
Doença da vaca louca, 22
Doença de Darier (ceratose folicular), 385
Doença de Fabri, 210-211, 212f, 213
Doença de Farber, 212f
Doença de Gaucher, 210-211, 210-212f, 213, 471-472
Doença de Hartnup, 250
Doença de Huntington, 433, 433f
Doença de Krabbe, 212f
Doença de Menkes, 48
Doença de Niemann-Pick, 208, 208f, 210-211, 212f, 232
Doença de Pompe, 129f, 131, 471-472
Doença de Refsum, 195
Doença de Sandhoff, 212f
Doença de Tangier, 236
Doença de Tay-Sachs, 210-211, 212f
Doença de von Gierke, 130f, 301
Doença de Wilson, 48
Doença de Wolman, 232
Doença do armazenamento do glicogênio do tipo Ia, 121
Doença do Prion, 22, 22f
- Doença do xarope de bordo, 266-267, 268f, 269f, 272-273
classificação de, 272-273
tratamento da, 273
varredura e diagnóstico da, 273
Doença granulomatosa crônica, 150
Doença pulmonar obstrutiva crônica, 361f
Doença vascular, homocisteína na, 263-266, 265-266f
Doenças do armazenamento de glicoproteínas, 169, 170
Doenças do armazenamento do glicogênio, 129-130f
tipo Ia (doença de Von Gierke), 121, 130f
tipo II (doença de Pompe), 129f, 131
tipo V (síndrome de McArdle), 129f
Doenças do armazenamento lipídico, 210-211
Doenças hepáticas
aminotransferases em, 65, 251-252, 251f
níveis de amônia em, 257-258
Dogma central da biologia molecular, 395, 395f
Dolicol, 167
Dolicol, oligossacarídeos unidos ao, síntese de, 167
Domínios, de polipeptídeos, 19
Dopamina, na síntese de catecolaminas, 286, 286f
Dopamina β -hidroxilase, 286
dTTP, 404
Duodeno, emulsificação de lipídeos da dieta no, 175
Dupla-hélice, do DNA, 395, 397-398, 397f
antiparalela, 397, 397f
eixo de simetria para a, 397, 397f
forma A da, 398
forma B da, 398, 399f
forma Z da, 398, 399f
formas estruturais da, 398, 399f
natureza complementar da, 397, 397f
pareamento de bases na, 397, 397f
regras de Chargaff para, 397
separação das fitas na, 397-398
sulco maior da, 397, 397f
sulco menor da, 397, 397f
Duplos recíprocos, gráfico dos, da ação enzimática, 59, 59f
- E**
- ECA. Veja Enzima conversora de angiotensina*
EcoRI, 466f
EET. *Veja* Encefalopatias espongiformes transmissíveis
Efeito Bohr, 29-31
fonte dos prótons que reduzem o pH, 29-30, 29-30f
mecanismo do, 30-31
Ehlers-Danlos, síndrome de, 48, 48f
Eicosanoides, 213
- Eixo de simetria, 397, 397f
Elastase, 249f
Elastase, inibição da, 50, 50f
deficiência de, e enfisema, 50
Elastina, 43, **49-51**
degradação da, 50
 $\alpha 1$ antitripsina na, 50, 50f
doenças da, 50, 51f
desmosina, ligações cruzadas na, 49, 49f
estrutura da, 49, 49f
função da, 43
mapa conceitual para a, 51f
propriedades mecânicas da, 43
Elemento de resposta a esteroides (ERE), 222-223, 223f, 232
Elemento de resposta ao AMPc (CRE), 456-457
Elemento reguladores de ação cis, 454-456
Elementos de ação trans, 449-450, 450f
na transcrição em eucariotos, 454-455
Elementos de resposta a glicocorticoides (ERG), 455-456
Elementos de resposta a hormônios (ERH), 240, 241f, 454-456
Elementos de resposta ao ferro (ERF), 457-458, 457-458f
Elementos genéticos (sequências no DNA) de ação cis, 449-450, 450f
Eletroforese, na anemia falciforme, 36, 36f
Eletroforética, mobilidade
das lipoproteínas de baixa densidade, 227, 228f
das lipoproteínas plasmáticas, 227, 228f
Eletrólitos, anfotéricos, 9
Emaranhados neurofibrilares, na doença de Alzheimer, 21
Enalapril, 62
Enantiômeros, 84-85, 84-86f
Encéfalo
comunicação com outros órgãos metabólicos, 307, 307f
consumo de oxigênio pelo, 327-328
corpos cetônicos utilizados pelo, 196, 327-328, 332, 332f
necessidades de glicose para o, 327-328, 332
no estado absorvivo/alimentado, **326-328**, 327-328f
inter-relações teciduais no, 328-329f
metabolismo de lipídeos no, 327-328, 327-328f
metabolismo dos carboidratos no, 327-328, 327-328f
no jejum, **332**, 332f
no metabolismo energético, 307, 307f
papel metabólico do, 307
prioridade metabólica para o, 326-327
Encefalopatia espongiforme bovina, 22
Encefalopatias espongiformes transmissíveis, 22

- Endereçamento proteico, 45, 166, 442-443
- Endocitose
de glicosíngolipídeos, 209-210
de lipoproteínas de baixa densidade, 232, 233f
de lipoproteínas de densidade intermediária, 231
de remanescentes de quilomícra, 230-231
mediada por receptor, 232, 233f
- Endocitose mediada por receptor, 232, 233f
- Endoglicosidases*, 86-87
- Endonuclease (s), de restrição, 405, **465-466**, 465-466f
especificidade de, 465-466, 466f
extremidades adesivas e retas criadas por, 466, 466f, 467f
nomenclatura para, 466
sítios de restrição para, 466
- Endonuclease UV-específica*, 411-412
- Endonucleases de restrição, **465-466**, 465-466f
especificidade das, 465-466, 466f
extremidades adesivas e retas criadas por, 466, 466f, 467f
nomenclatura, 466
sítio de restrição para, 466
- Endopeptidase, 15, 249
- Energético, ganho
a partir da glicólise, 104
a partir da oxidação dos ácidos graxos, 192, 193f
da oxidação de ácidos graxos, 189, 192, 193f
- Energia
ATP como transportador de, **72-73**
conteúdo no alimento, 359-360, 359-360f
livre, 55. *Veja também* Energia livre
de ativação, 55, 55f
padrão, variação da (ΔG°), 71-72, 71f
variação da, 69-72, 69-70f
necessidades em humanos, **358-360**
produção de
no ciclo do ácido cítrico, **113**, 113f
utilização pelo organismo, 359-360, 359-360f
- Energia livre, **69**, 69f
de ativação, 55, 55f
catalisada vs. não catalisada, 55, 55f
menor, em vias alternativas de reação, 55
liberação, durante o transporte de elétrons, 75-77
padrão, variação na (ΔG°), 71-72
aditiva
em reações consecutivas, 72
em vias, 72
na hidrólise do ATP, 73
para prever o sentido da reação em condições padrão, 71
relação com K_{eq} , 71-72
relação com o potencial de redução padrão, 77
variação na (ΔG), 69-72
acoplamento de negativas e positivas, 69-70
concentrações de reatantes e produtos e, 69-71, 71f
em reações no sentido direto e reverso, 69-70
negativa, 69-70, 69-70f
para prever o sentido da reação, 69-70
positiva, 69-70, 69-70f
relação com entalpia e entropia, 69, 69f
zero, no equilíbrio, 69-70
- Energia livre, variação da, em reações no sentido inverso, 69-70
- Enfisema, deficiência de α_1 -antitripsina e, 50, 51f
- Enoil-CoA-hidratase*, 192f
- 3,2-Enoil-CoA-isomerase*, 195
- Enolase*, 101-102
- eNOS, 151
- Ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA), 483-484, 484-485f
- Entalpia, 69, 69f
- Enterócitos
absorção de lipídeos por, 176
absorção de monossacarídeos por, 87-88
enzimas sintetizadas pelos, na digestão dos carboidratos, 86-88, 87-88f
formação dos quilomícra nos, 228
secreção de lipídeos por, 177-178
- Enteropeptidase (enterocinase)*, 248
- Entropia, 69, 69f
- Envelhecimento, telômeros e, 407-408
- Envenenamento por chumbo, 279, 281f, 374-375f
- Enzima central da *RNA-polimerase*, 419
- Enzima conversora de angiotensina* (ECA), 239
- Enzima conversora de angiotensina* (ECA), inibidores da, 62
"Enzima de desramificação", 128
- Enzima de ramificação, 128
- Enzima málica. Veja Malato-desidrogenase dependente de NADP⁺*
- Enzima(s), **53-68**. *Veja também* enzimas específicas
alostéricas, 57, 67f
cinética de curva sigmoidal das, 57, 62f, 63
efetores ou modificadores de, 62-63, 62f, 64f
no passo comprometido (limitante da velocidade) das vias, 62
alterações no jejum, 328-330
ativação de, 55, 55f
central, 419
classificação pela IUBMB, 53, 53f
cofatores para, 54
como catalisadores proteicos, 54
compartimentalização das, 55
de salvação, 408-409
degradação de, 64f
desfosforilação de, 63, 63f
desnaturação de, temperatura e, 57
e estado de transição, 56, 56f
e variações de energia livre, 55, 55f
eficiência catalítica de, 54
fatores da, 56
em reações de vias alternativas, 55
ensaio no soro de, 65
ensaios no plasma, 65
equação de Michaelis-Menten para, **58-59**
especificidade de, 54
fosforilação de, 63, 63f
funções das, 53
inibição de, 55, **60-62**
competitiva, 60-61, 60f
irreversível, 60
não competitiva, 61-62, 61f, 62f
por retroalimentação, 63, 63f
reversível, 60
inibidores de, como drogas, 62
ligadas à biotina, 443-444, 443-444f
localização dentro da célula, 54f, 55
mapa conceitual, 67f
mecanismo de ação, **55-56**
gráfico de Lineweaver-Burke, 59, 59f
na oxidação de acil-CoA graxo, 192
na síntese de glicosíngolipídeos, 209-210
no diagnóstico clínico, **64-66**
no estado absorvivo/alimentado, **321-323**, 322-323f
no jejum,
nomenclatura das, **53**
nome recomendado, 53
nome sistemático, 53, 53f
número de renovação das, 54
pancreáticas, 175-176
pH ótimo para, 58, 58f
propriedades das, **54-55**
reações de ordem zero, 59, 59f
reações de primeira ordem de, 59, 59f
regulação das, 55, **62-64**, 64f
alostérica, 62-63, 62f, 64f
por inibição pelo produto, 64f
por inibição pelo substrato, 64f
por modificação covalente, 63, 63f, 64f, 321-322f, 322-323
resumo das,
síntese de, indução e repressão da, 63-64, 321-322f, 322-323
no estado absorvivo/alimentado, 321-323, 322-323f
no jejum, 328-330
sítios ativos de, 54, 54f
ionização dos, 57
química dos, 56
velocidade da reação de cinética de curva hiperbólica das, 57, 57f
concentração de enzima e, 59, 60f
concentração de substrato e, 57, 57-59f
fatores que afetam a, **56-58**
inibição competitiva e, 60-61, 60f
inibição não competitiva e, 61-62, 61f
inicial, 57
máxima (V_{max}), 57, 57f
pH e, 57-58, 58f
temperatura e, 57, 57f
- Enzimas, curva cinética para, 57, 57f
- Enzimas de salvação, 408-409
- Enzimas digestivas
deficiências de, 88
diagnóstico de, 88
- Enzimas ligadas à biotina, 443-444, 443-444f
- Enzimas plasmáticas
classificação de, 64
como ferramenta diagnóstica, 65
na renovação celular normal, 64-65, 64f
níveis elevados, 65
em estados patológicos, 64f, 65
- Enzimas séricas, medições, 65
- Epímeros, 83-85, 84-85f
- Epiteliais, células, vitamina A e, 384
- Equilíbrio, variação zero de energia livre no, 69-70
- Equivalentes de redução, transporte de, 79-80, 79f
- Ergocalciferol, 386, 386f
- Eritrócitos
G6PD nos, 152, 152f
deficiência de, 152, 152f
hemoglobina nos, 26-27
NADPH nos, 148
síntese de 2,3-bisfosfoglicerato nos, 101
- Eritrócitos, células produtoras de, na síntese do heme, 278-279
- Eritromicina, 441f
- Eritropoietina, e síntese do heme, 279
- Erros inatos do metabolismo, 270-274
- Escherichia coli*
óperon da lactose na, 450-452, 451f
regulação da expressão gênica na, 450-454
replicação do DNA na, 399-406
sequência de Shine-Dalgarno na, 438-439, 453-454
síntese proteica na, 440-441f
- Esclera,
amarela, 284
azul, 49

- Escorbuto, 47-48, 47-48f, 377, 377f, 393f
- Escore de Aminoácidos Corrigido para Digestibilidade da Proteína (EACDP), 367, 367f
- Esfinganina, 203f
- Esfingofosfolípidos, 202-203
- Esfingolípídeos. *Veja* Glicosíngolípídeos
- Esfingolipídoses, 209-213, 210-212f
- Esfingomielina, 202-203, 203f
- degradação da, 208, 208f
- doenças da, 208, 208f
- e fosfatidilcolina, razão entre, na síndrome da angústia respiratória, 203-204
- síntese de, 206-207, 207f
- Esfingomielinase*, 208
- Esfingosina, 201
- Espécies reativas de oxigênio, 148-149, 148f
- na porfiria, 280
- Espermatozoides, metabolismo da frutose nos, 139-140
- Espinha bífida, 265-266, 375-376
- Espiral randômica, 18
- Esqualeno, 220-221
- Esquimós, intolerância à lactose nos, 88
- Estado absorvivo, **321-322**. *Veja também* Estado alimentado
- Estado alimentado, 321-328
- alterações enzimáticas no, **321-323**, 321-322f
- depósitos de glicogênio no, 126, 131, 135f
- disponibilidade de substratos no, 321-322, 321-322f
- efetores alostéricos no, 321-322, 321-322f
- encéfalo no, **326-328**
- metabolismo dos carboidratos no, 327-328, 327-328f
- metabolismo dos lípidos no, 327-328, 327-328f
- fígado no, **322-325**, 323-324f
- metabolismo dos aminoácidos no, 323-324f, 324-325
- metabolismo dos carboidratos no, 322-325, 322-323f
- metabolismo dos lípidos no, 322-324f, 324-325
- glicólise no, 100, 100f, 323-324, 323-324f, 325-326, 325-326f
- indução-repressão da síntese de enzimas no, 321-322f, 322-323
- mapa conceitual para o, 335f
- modificações covalentes no, 321-322f, 322-323
- músculo esquelético em repouso no, **325-327**
- metabolismo dos aminoácidos no, 326-327, 326-327f
- metabolismo dos carboidratos no, 326-327, 326-327f
- metabolismo dos lípidos no, 326-327, 326-327f
- relações entre tecidos no, 328-329f
- tecido adiposo no, **324-326**
- metabolismo dos carboidratos no, 325-326, 325-326f
- metabolismo dos lípidos no, 325-326, 325-326f
- Estatinas, 224, 361
- inibição competitiva de enzimas pelas, 61, 61f
- Esteatorreia, 177, 178f, 248
- Esteatorreia por redução do intestino, 177
- Esteatose hepática, 231
- Estequiometria, do ciclo da ureia, 255-256
- Estercoílina, 283
- Ésteres de colesterol, 220, 220f
- ácidos graxos como componentes dos, 181
- degradação dos, 175
- em lipoproteínas, 227, 228f, 231, 231f
- secreção pelos enterócitos, 177, 177f
- síntese *de novo*, 176-177
- síntese dos, 234, 234f
- transferência da HDL para a VLDL, 231, 231f
- Esteroides, 173f
- Esteroides, hormônios, **237-240**, 237f
- adrenocorticais
- secreção dos, 239, 239f
- deficiência de, 238, 238f
- degradação dos, 240
- excreção de, 240
- mecanismo de ação dos, 240, 240f, 241f
- metabolismo dos, 240
- secreção gonadal de, 240
- síntese de, 237-238, 238f
- colesterol na, 237-238
- passo limitante da velocidade na, 237
- transporte de, 237
- Esteroides fecais neutros, 224
- Esteroides vegetais, 220
- Esterol(is), 219-220
- fecais neutros, 224
- na regulação da HMG-CoA-redutase, 222-223, 223f
- vegetais, 220
- Estimuladores, na regulação gênica em eucariotos, 424, 424f
- Estômago
- digestão de proteínas no, 248
- processamento de lípidos no, 173-174
- Estradiol, 237f, 238f, 239
- Estreptomicina, 440f
- Estresse, resposta ao, ACTH na, 239
- Estringente*, fator, 453-454
- Estringente, resposta, 453-454, 453-454f
- Estrogênios, 237, 239, 240f
- Etanol
- hiperuricemia secundária e, 301
- porfiria e, 280
- redução do piruvato a, 105, 106f
- Etanolamina, síntese de fosfatidiletanolamina e, 203-204
- Etoposide, 401
- Euromatina, 422, 459-460
- Exercício
- e gasto de energia, 359-360f, 360
- e perda de peso, 354
- e risco de diabetes melito tipo 2, 345-346, 346f
- Éxons, 426
- 3'→5' *Exonuclease*, 404f, 405
- 3'→5' *Exonuclease*, 406-407
- Exopeptidase*, 15, 249
- Expansão de repetições trinucleotídicas, 433, 433f
- Explosão respiratória, 150
- Expressão gênica
- análise da, **482-485**
- detectando exposição ao HIV, 483-484, 484-485f
- ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA), 483-484, 484-485f
- microsatélites de DNA na, 482-484, 483-484f
- proteômica, 484-485
- transferências de Northern, 482-483
- transferências de Western, 483-484, 484-485f
- regulação da, 449, 449f
- em eucariotos, 449, 449f, **453-461**, 463f
- em procariotos, 449f, **450-454**, 463f
- mapa conceitual, 463f
- Expressão gênica, em procariotos, regulação da, 449f, **450-454**, 463f
- coordenação da transcrição e tradução, 452-454, 453-454f
- óperon da lactose e, 450-452, 451f
- óperon do triptofano e, 452-453, 452-453f
- papel dos operadores, 450, 451f
- transcrição do RNAm a partir de óperons bacterianos, 450
- Expressão gênica em eucariotos, regulação da, 449, 449f, **453-461**, 463f
- Extremidades adesivas, de fragmentos de DNA, 466, 466f, 467f
- Ezetimiba, 176
- F**
- FAD. *Veja* Flavina adenina dinucleotídeo
- FADH₂, 73, 73f, 75-76
- no ciclo do ácido cítrico, 112f, 113
- produção de, na oxidação dos ácidos graxos, 192, 193f, 195
- Fagocitose, 150, 150f
- de glicosaminoglicanos extracelulares, 163
- dependente de oxigênio, 150
- independente de oxigênio, 150
- Farnesil, grupos, adição a proteínas, 443-444, 443-444f
- Farnesil pirofosfato (FPP), 220-221
- Fase S, do ciclo celular, 406-407, 406-407f
- Fator de ativação plaquetária (PAF), 202, 202f
- Fator de crescimento do endotélio vascular, 458-459
- Fator de iniciação da tradução em eucariotos (eIF2), 459-460, 459-460f
- Fator de relaxamento derivado do endotélio, 151. *Veja também* Óxido nítrico
- Fator de terminação, 419
- Fator intrínseco, 377
- Fator sigma, 419
- Fatores ambientais, na obesidade, 351-352
- Fatores de liberação, 441f, 442
- Fatores de transcrição, 422-423, 423f, 449
- Fatores genéticos, na obesidade, 352, 352f
- Fatores proteicos, 437
- Favismo, 153
- Febuxostate, 301
- FEN1*, 405-406
- Fenilacetato, 271
- Fenilacetilglutamina, 257-258, 257-258f
- Fenilalanina
- cadeias laterais da, 2f
- catabolismo da, 263-264, 263-264f
- deficiências herdadas no metabolismo da, 263-264
- tirosina e, 268
- Fenilalanina-hidroxilase*, 263-264, 268, 271-272, 287
- deficiência de, 270-271, 270f
- detecção pré-natal de mutação do gene da, 476-477, 479-480f
- Fenilbutazona, 214
- Fenilbutirato, 257-258, 257-258f
- Fenilcetonúria, 263-264, 268f, 269f, 270-272, 270f
- características da, 271, 271f
- diagnóstico pré-natal da, 271-272
- diagnóstico pré-natal da, usando RFLP, 476-477, 479, 479-480f
- materna, 272
- tratamento da, 272
- triagem neonatal e diagnóstico da, 270, 271
- Fenilisotiocianato, 15
- Fenil-lactato, 271
- Fenilpiruvato, 271
- Feniltioidantoína (PTH), 15
- Fenobarbital, 279
- Fenólicos, compostos, 365
- Feocromocitoma, 286
- Ferro
- ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- metabolismo do, 457-459, 457-458f
- nas porfirinas, 277
- no heme, 25, 25f
- Ferroquelatase*, 62, 279, 281f
- Ferroso, íon (Fe²⁺), no heme, 25, 25f
- α-Fetoproteína, detecção de, 476
- Fetoscopia, 476

- Fibras
funcionais, 366
insolúveis, 366
na dieta, 365-366, 366f
ações, 366, 366f
variações aceitáveis na distribuição de, 360f
solúveis, 366
totais, 366
- Fibratos, 226
- Fibrilas, colágeno associado a, 44-45, 44-45f
- Fibrilas formadoras de colágeno, 44-45, 44-45f
- Fibrilina
gene, mutação e síndrome de Marfan, 49
tropoelastina, interação com, 49
- Fibrose cística
deficiência de enzimas pancreáticas na, 174
diagnóstico pré-natal, 482-483, 482-483f
esteatorreia na, 177, 248
mutações causais da, 433-434
proteínas ABC e, 236
- Fígado
D-aminoácidos metabolizados pelo, 253
captação da bilirrubina pelo, 282, 283f
comunicação com outros órgãos metabólicos, 207, 207f
consumo de lactato no, 103
degradação do heme no, 282, 282f
destoxificação no, 149
e diabetes melito
tipo 1, 333, 339f
tipo 2, 342, 344, 345f
e metabolismo energético, 307, 307f
glicogênio no, 125-126, 126f, 131, 135f
gliconeogênese no, 117
gorduroso, 231
metabolismo da frutose no, 138
no estado absorptivo/alimentado, 322-325, 323-324f
metabolismo dos aminoácidos no, 323-324f, 324-325
metabolismo dos carboidratos no, 322-325, 323-324f
metabolismo dos lipídeos no, 323-324f, 324-325
relações entre tecidos e, 328-329f
no jejum, 329-332, 330f
metabolismo de gorduras no, 330-332, 330f
metabolismo dos carboidratos no, 329-330, 330f
relações entre tecidos e, 334f
remanescentes de quilomicra e, 178, 230
síntese de ácidos graxos no, 183, 324-325
síntese do colesterol, 220
síntese do heme no, 278-279
síntese dos ácidos biliares no, 149, 224
- sistema do citocromo-P450-monooxigenase do, 149
transporte de amônia para o, 253
transporte de vitamina A para o, e liberação do, 382, 383f
- Fígado gorduroso, 231
- Filoquinona (vitamina K₁), 389
- Fita contínua, no DNA, 402, 403f
- Fita descontínua, 402, 403f
- Flavina adenina dinucleotídeo (FAD), 73, 380-381, 380f
como coenzima
para a desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada, 266-267
para a *NADPH-oxidase*, 150
para a *óxido-nítrico-sintase*, 151
para o complexo da α -Cetoglutarato-desidrogenase, 112
para o complexo da piruvato-desidrogenase, 110-111, 110-111f
forma reduzida da, 75-76, 380-381. *Veja também* FADH₂
na matriz mitocondrial, 73-74
na oxidação de ácidos graxos, 195
no ciclo do ácido cítrico, 112-113, 112f
- Flavina mononucleotídeo (FMN), 75, 380-381, 380f
como coenzima, para a *óxido-nítrico-sintase*, 151
forma reduzida da (FMNH₂), 381
na cadeia transportadora de elétrons, 75, 75f
na cadeia transportadora de elétrons, 75, 75f
na síntese de *óxido nítrico*, 151
oxidação do NADH por, 75-76, 77f
- Fluorcitrato, 112
- Fluoreto, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- Fluoroacetato, 112
- 5-Fluorouracil, 303
- Fluvastatina, 224
- FMN. *Veja* Flavina mononucleotídeo
- FMNH₂, 381
na cadeia transportadora de elétrons, 75, 75f
- Folhas β , 17, 17f
- Folhas β paralelas, 17, 17f
- Forense, análise, do DNA, 481-483
- Formaldeído, 267-268
- N¹⁰-formiltetra-hidrofolato, 292, 293, 438-439
- N-formiminoglutamato (FIGlu), 262
- Fórmulas de projeção de Fischer, 84-85, 85-86f
- Forquilha de replicação, 399-400, 400f
- Forssman, antígeno, 208-209
- Fosfatase, 101
- Fosfatase alcalina, 206
- Fosfatidilcolina, 202
- Fosfatidilcolina, 201f, 234
como surfactante pulmonar, 203-204
na bile, 224
síntese de, 203-204, 203-204f
a partir da fosfatidilserina, no fígado, 203-204, 203-204f
- Fosfatidilcolina:colesterol-aciltransferase (PCAT), 234-236
- Fosfatidiletanolamina, 201f, 202, 202f, 203-204
síntese de, 203-204
- Fosfatidilglicerol, 206
- Fosfatidilinositol, 205-206
como reservatório de ácido araquidônico, 205
na transmissão de sinal através da membrana, 205-206, 205f
no ancoramento de proteínas na membrana, 206, 206f
síntese de, 205-206
- Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂), 205
- Fosfatidilserina, 201f, 205
síntese de fosfatidilcolina a partir de, 203-204, 203-204f
- Fosfato
adição de. *Veja* Fosforilação e vitamina D, 388
inorgânico (Pi)
como ativador da *PRPP-sintase*, 293, 293f
na síntese de ATP, 73
remoção do. *Veja* Desfosforilação
- 3'-Fosfoadenosina-5'-fosfossulfato (PAPS), 162, 209-210, 209-210f, 263-264
- Fosfodiesterase, 95-97
- Fosfodiesterase do AMPc, 95-96
- Fosfoenolpiruvato (PEP), 101-102
glucagon e, 122, 122f
na glicólise, 101-102, 101-102f
na gliconeogênese, 118-120, 119f
- Fosfofrutocinase
glucagon e, 122, 123
inibição pelo citrato, 63, 98-99, 112
insulina e, 313
na glicólise, 101-102, 121, 138
no estado absorptivo/alimentado, 323-324
regulação hormonal da, 105, 105f
- Fosfofrutocinase-1 (PFK-1)
na glicólise, 99, 100f
na gliconeogênese, 120, 120f
no estado absorptivo/alimentado, 321-322
- Fosfofrutocinase-2 (PFK-2), 99
- 2-Fosfoglicerato, desidratação do, 101-102
- 3-Fosfoglicerato, 101-102, 268
- Fosfoglicerato-cinase, 101-102
- Fosfoglicerato-mutase, 101-102
- Fosfoglicerídeos. *Veja* Glicerofosfolipídeos
- Fosfoglicomutase, 126, 128f, 130
- 6-Fosfogliconato, via do. *Veja* Pentoses-fosfato, via das
- 6-Fosfogliconato-desidrogenase, 146
- 6-Fosfogliconolactona, na via das pentoses-fosfato, 145-146, 146f
- 6-Fosfogliconolactona-desidrogenase, 146
- 6-Fosfogliconolactona-hidrolase, 146
- Fosfoglicose-isomerase, 99
- Fosfoglicose-isomerase, deficiência de, 103
- Fosfolipase A₁, 207-208, 207f
- Fosfolipase A₂, 175, 207-208, 207f, 213, 214
- Fosfolipase C, 205, 205f, 206, 207f, 208
- Fosfolipase D, 207f
- Fosfolipídeo(s), 173f, 201-208
- Fosfolipídeos
ácidos graxos como componentes dos, 181
degradação dos, 175-176, 207-208, 207f, 208f
por enzimas pancreáticas, 174, 174f
estrutura dos, 201-203, 201f, 202f
funções dos, 201
mapa conceitual dos, 217f
metabolismo dos, 173-180, 201-208
nas lipoproteínas, 227, 228f, 232f
nas membranas celulares, 201
natureza anfipática, 201
remodelamento, 207-208
síntese dos, 203-207, 203-204f, 207f
- Fosfomanose-isomerase, 138
- Fosfoproteína-fosfatase, 63, 63f, 101-102, 223
- Fosforilação
da frutose, 137-138, 138f
da frutose 6-fosfato, 99-100, 100f
da galactose, 140
da glicose, 98-99, 98-99f
da HMG-CoA-redutase, 223, 223f
de enzimas, 63, 63f
de proteínas, 442-443f, 443-444
defeitos herdados da, 80
do fator de iniciação da tradução em eucariotos, 459-460, 459-460f
independente de esteróis, 223, 223f
no nível do substrato, 98-99, 101-102, 112
oxidativa, 73, 73f, 77-80
desacoplamento do transporte de elétrons, 78-79
em vias catabólicas, 93-94
forte acoplamento ao transporte de elétrons, 77-78
mapa conceitual para a, 81f
- Fosforilação no nível do substrato, 98-99, 101-102, 112
- Fosforilação oxidativa, 73, 73f, 77-80
defeitos herdados na, 80
desacoplamento do transporte de elétrons, 78-79

- em vias catabólicas, 93-94
fortemente acoplada ao transporte de elétrons, 77-80
mapa conceitual para a, 81f
Fosforilase-cinase, 132
complexo cálcio-calmodulina e, 132, 133f
forma a ativada da, 132, 133f
forma b inativa da, 132-133, 133f
Fósforo, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
5-Fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP)
na síntese de pirimidinas, 302
na síntese de purinas, 293, 293f, 294f
síntese de, 292-293, 293f
5'-Fosforribosilamina, síntese de, 293
Fotossensibilidade, na porfiria, 280
Fragmentos de restrição, 465-466
extremidades adesivas e retas dos, 266-267, 266-267f
Frutocinase, 137
deficiência de, 138
na fosforilação da frutose, 137-138, 138f
Frutose, 83-84, 365
absorção por células da mucosa intestinal, 87-88
como isômero, 83-84, 84-85f
conversão de glicose em, via sorbitol, 139-140
fontes dietéticas de, 137
fosforilação da, 137-138, 138f
ingestão dietética de, 365
metabolismo de, **137-140**, 137f, 139f
cinética do, 138
deficiências do, 138
mapa conceitual do, 143f
Frutose 1,6-bisfosfatase, 99, 120-121, 120f, 122, 123
no estado absoritivo/alimentado, 321-322, 322-323f, 324-325
no jejum, 329-330
Frutose 1,6-bisfosfato
clivagem da, 100, 100f
desfosforilação da, 120-121, 120f
na glicólise, 100, 101f
na gliconeogênese, 120-121, 120f
na regulação da piruvato-cinase, 101-102
regulação da
pela frutose 2,6-bisfosfato, 120f, 121
pelos níveis de glucagon, 120f, 121
pelos níveis energéticos da célula, 120-121
Frutose 1-fosfato
clivagem da, 138, 139f
conversão de frutose em, 138
Frutose 1-fosfato aldolase, 138
Frutose 2,6-bisfosfato
glucagon e, 121
insulina e, 100, 100f
na regulação da fosfofrutocinase-1, 99, 100f
na regulação da frutose 1,6-bisfosfatase, 120f, 121
no estado absoritivo/alimentado, 321-322
Frutose 6-fosfato, 147
conversão da manose em, 138
fosforilação da, 99-100, 100f
isomerização da glicose 6-fosfato em, 99, 99f
na síntese de aminoácidos, 161, 161f
na via das pentoses-fosfato, 147, 147f
regulação da glicocinase pela, 98-99
Frutosúria, essencial, 139f
L-Fucose (Fuc), 166
Fumarase (fumarato-hidratase), 113
Fumarato
formação do, no catabolismo dos aminoácidos, 263-264, 263-264f
hidratação do, 112f, 113
no ciclo da ureia, 253-255, 254f
oxidação do succinato a, 112f, 113
Furanose, 84-85
- G**
- G₀, fase do ciclo celular, 406-407, 406-407f
G₁, fase do ciclo celular, 405-406, 406-407f
G₂, fase do ciclo celular, 406-407, 406-407f
Galactocerebrosideo, 208-209, 208-209f
Galactocerebrosideo 3-sulfato, 209-210, 209-210f
Galactocinase, 140
deficiência de, 141f, 142
D-galactosamina, 157-158
Galactose
absorção por células da mucosa intestinal, 87-88
como isômero, 83-84, 84-85f
epímeros, 83-85
fontes na dieta, 140
fosforilação da, 140
ligada ao UDP, 140-141, 141f
como fonte de carbonos para a glicólise ou gliconeogênese, 140-141
em reações biossintéticas, 141
metabolismo da, 137f, **140-142**, 141f
doenças do, 141-142, 141f
mapa conceitual do, 143f
na lactose, 142
Galactose 1-fosfato, 140
Galactose 1-fosfato-uridiltransferase, 140, 141, 141f
Galactosemia
clássica, 141, 141f
deficiência de galactocinase e, 141f, 142
 β -Galactosidase (lactase), 87-88, 450
deficiência de, 140, 141
 β -D-Galactosil-transferase, 142
Gangliosídeos, 208-210, 208-209f
Gangliosidoses, GM₁, 212f
Gemfibrozil, 226
Gene-chip (microarranjos), 483-484
Genes constitutivos, 449
Genoma humano, 465-466
Geranil pirofosfato (GPP), 220-221
Gestação
retinoide/vitamina A, toxicidade na, 386
suplementação com ácido fólico na, 375-376
Ginecoide ou em forma de pera, 350-351, 350-351f
Glândulas mamárias em lactação, síntese de ácidos graxos nas, 183
Glicação, 168
Glicêmica, resposta, 366
Glicêmico, controle, no diabetes melito, 345-346, 346f
Gliceraldeído, 83-84, 83-84f
Gliceraldeído 3-fosfato, 96-97, 111, 161
na via das pentoses-fosfato, 147
oxidação do, 101, 101f
Gliceraldeído 3-fosfato-desidrogenase, 101, 103
Glicerofosfato, lançadeira do, 79f, 80
Glicerofosfolídeos, 201-202, 201f
antigênicos, 202
degradação de, 207-208, 207f
síntese de, 201f, 202
Glicerofosforil-base, 176
Glicerol
como precursor gliconeogênico, 117
destino do, 178, 190
fosforilação do, 117
nos fosfolídeos, 201-202, 201f
oxidação do, 117
Glicerol 3-fosfato, 311, 324-325
Glicerol-cinase, 117, 189, 190
no estado absoritivo/alimentado, 325-326
Glicerol-fosfato
na síntese do ácido fosfatídico, 189f
na síntese dos triacilgliceróis, 189, 189f
síntese do, 188f, 189
Glicerol-fosfato-desidrogenase, 75-76, 80, 117, 189, 190
Gliceroneogênese, 190, 331-332
Glicina
cadeia lateral da, 2f
catabolismo da, 263-264, 263-264f
como fonte de átomos para o anel das purinas, 292, 293f
conjugação a ácidos biliares, 225, 225f
em β -dobraduras, 17
interconversão com serina, 263-264, 263-264f, 268
na síntese de creatina, 287, 288f
na síntese de porfirinas, 278-279
no colágeno, 45
propriedades ópticas, 5-6
síntese da, 268
Glicoamilase, 87-88
Glicocerebrosideos, 208-209
Glicocinase
cinética da, 98-99, 98-99f
insulina e, 99, 105, 105f, 310, 313
na fosforilação da glicose, 98-99, 98-99f, 99f
no estado absoritivo/alimentado, 322-323, 323-324f
regulação da, 98-99, 99f, 105, 105f
vs. *Hexocinase*, 98-99
Glicocorticoides, 237
Glicocorticoides, receptores para, 455-456
Glicoesfingolípídeos, **208-213**
ácidos, 208-210, 208-209f
antigênicos, 208-209
como receptores da superfície celular, 208-209
degradação dos, **209-213**
doenças da, 210-213, 210-212f
estrutura dos, **208-210**, 208-209f
mapa conceitual para, 217f
neutros, 208-209, 208-209f
síntese dos, **209-213**, 210-211f
Glicogênese. *Véja* Glicogênio, síntese do
Glicogênicos, aminoácidos, **261**, 262f, 266-267
Glicogenina, 127, 127f
Glicogênio, 84-86
armazenamento do, 125-126
flutuações no, 126
cadeias do
elongação das, 127
encurtamento das, 128
como fonte de combustível para o músculo esquelético em repouso, 332
degradação do (glicogenólise), 125-126, 125-126f, **128-131**, 129-130f
AMP e, 132
cálcio e, 131-132, 132f
lisossomal, 130-131
no jejum, 329-330, 329-330f
regulação da, **131-134**, 133f
via modulada pelo AMPc e, 132-133
depósitos de, antes do jejum, 329-330, 329-330f
estrutura do, **125-126**, 126f
função do, **125-126**
hepático, 125-126, 131f
metabolismo do, **125-136**
mapa conceitual para o, 135f
muscular, 125-126, 131f
no estado alimentado, 126, 131, 135f
no jejum, 126, 131, 135f
ramificações do
formação de, 128
remoção de, 128-130
regulação alostérica do, 131-132, 131f
regulação hormonal do, 133-134, 133-134f

- síntese do (glicogênese), 125-126, 125-126f, **126-128**, 127f
 inibição por via modulada por AMPc, 133-134
 iniciador (*primer*) para a síntese do, 126-127
 no estado absorvivo/alimentado, 323-324, 326-327, 326-327f
 regulação da, **131-134**, 133-134f
- Glicogênio-fosforilase*, 128, 128f, 129f, 130, 133-134
 AMP e, 132-133, 133f
 ativação da, 132-133, 133f
 controle alostérico da, 131-132, 131f
 deficiência de, 129f
 forma inativa da, 133, 133f
 fosforilação da, 63
 no estado absorvivo/alimentado, 322-323, 322-323f
 no jejum, 329-330
- Glicogênio-fosforilase-cinase*
 no estado absorvivo/alimentado, 322-323
- Glicogênio-fosforilase-cinase*, 329-330
- Glicogênio-sintase*, 184
 controle alostérico da, 131-132, 131f
 elongação das cadeias do glicogênio pela, 127, 127f, 128
 forma a, ativa, 133, 133f
 forma b inativa da, 133, 133f
 fosforilação da, 63
 inibição da síntese de glicogênio e, 133-134, 133-134f
 na síntese do glicogênio, 126-127, 127f
 no estado absorvivo/alimentado, 323-324
- Glicogenólise. *Veja* Glicogênio, degradação do
- Glicolípídeos, **208-213**. *Veja também* Glicosíngolípídeos
 ácidos graxos nos, 173f
- Glicólise, 91, 93f, 92f, **96-108**
 aeróbia, 96-102, 96-97f
 produção de energia na, 104
 anaeróbia, 96-97, 96-97f, 101-104, 104f
 características metabólicas da, 106f
 deficiências enzimáticas na, 101-103
 durante o jejum, 100, 100f, 105
 fase de geração de energia da, 101-104, 101f, 104f
 fase de investimento de energia da, 97-99, 98-100f
 favorecimento da gliconeogênese sobre a, reações necessárias para, 120-122
 intermediários da, na via das pentoses-fosfato, 145f
 mapa conceitual para a, 107f
 no estado absorvivo/alimentado, 100, 100f, 323-324, 323-324f, 325-326, 325-326f
- ponto de controle e passo limitante da velocidade, 99-100, 100f
 produção de energia pela, 104
 reações da, **97-104**
 regulação da, 105f
 hormonal, **104-105**, 105f
 UDP-galactose como fonte de carbono para a, 140-141, 141f
 vs. gliconeogênese, 121
- Gliconeogênese, 101-102, **117-124**, 117f, 125-126
 ativação alostérica da acetil-CoA e, 119
 ciclo de Cori e, 118, 118f
 consumo de etanol e, 317, 317f
 inibição alostérica pelo AMP e, 121
 mapa conceitual, 123f
 níveis de glucagon e, 121-122
 no estado absorvivo/alimentado, 323-325
 no jejum, 329-330, 330f
 reações exclusivas da, **118-121**
 regulação da, **121-122**
 relação com outras reações metabólicas, 117f
 substratos para a, **117-118**
 disponibilidade de, 122
 UDP-galactose como fonte de carbono para a, 140-141, 141f
 vs. glicólise, reações que a favorecem, 117, 121
- Glicopirranose, 84-85
- Glicoproteína (s), **165-171**
 carboidratos nas, 165-166
 carregadas negativamente, lipoproteínas de baixa densidade, 232
 degradação lisossômica das, **170**
 funções das, 165f
 mapa conceitual para as, 171f
 oligossacarídeos das, estrutura dos, **165-166**, 166f
 síntese das, **166-169**, 166f, 168f
 transporte através do aparelho de Golgi, 166-167, 167f
 transporte para os lisossomos, 169, 169f
 vs. proteoglicanos, 165
- Glicoproteínas N-ligadas, 142
- Glicoquenodessoxicolico, ácido, 225
- D-Glicosamina, 157-158
- Glicosamina-N-acetiltransferase*, deficiência de, 164f
- Glicosaminoglicanos (GAG), **157-164**
 açúcares ácidos nos, 157-158f, 161, 162f
 açúcares aminados nos, 157-158f, 160, 161f
 acúmulo nas mucopolissacarídeos, **163**, 164f
 carboidratos dos, síntese de, 162, 163f
 classificação dos, 158
 degradação dos, **162-163**, 164f
 lisossomal, 163
 distribuição dos, 158, 159f
- estrutura dos, **157-158**, 157-159f
 relação com função, 157-158
 extracelulares ou da superfície celular, fagocitose de, 163
 grupos sulfato dos, adição de, 162, 163f
 mapa conceitual para os, 171f
 proteínas centrais dos, 161
 regiões de ligação, 158, 159f, 162
 resiliência dos, 158, 158f
 síntese de, **158-162**
 unidades dissacarídicas repetitivas dos, 157-158, 157-158f
 unidades monossacarídicas dos, 157-158, 157-158f
 vs. glicoproteínas, 165
- Glucose, 365
 absorção pelas células da mucosa intestinal, 87-88
 α -D, no glicogênio, 126
 armazenamento de, 125-126
 carboidratos da dieta e, 366, 366f
 como fonte de energia, 125-126
 como isômero, 83-84, 84-85f
 conversão em frutose, 139-140, 140f
 conversão em piruvato, 96-103
 degradação de. *Veja* Glicólise e secreção de glucagon, 313, 313f
 e secreção de insulina, 310, 310f
 em indivíduos com peso normal e obesos, 342, 342f
 enantiômeros, 85-86f
 epímeros, 83-85, 84-85f
 fontes de, 125-126
 formação de. *Veja* Gliconeogênese
 formas anômeras da, 85-86f
 fosforilação da, 98-99, 98-99f
 glicocinase na, 98-99, 98-99f
 hexocinase na, 98-99, 98-99f
 no estado absorvivo/alimentado, 322-323
 hipoglicemia e, 314, 315f
 ingestão de, na dieta, 365
 e níveis sanguíneos de glicose, 366, 366f
 ligada a uridina-difosfato (UDP-glicose), 126-127, 127f
 metabolismo da, relações com a síntese de palmitato, 186, 187f
 na lactose, 142
 na regulação da expressão gênica, 451f, 452, 452f
 na transcrição de operons bacterianos, 452
 necessidades de, pelo encéfalo, 327-328, 332
 níveis sanguíneos elevados de, 337. *Veja também* Diabetes melito
 no colágeno, 45
 no diabetes melito, 342, 343f
 no estado absorvivo/alimentado, 321-322
 no jejum, 329-332, 330f, 332, 333f
- no sangue, carboidratos da dieta e, 366, 366f
 redução nos níveis sanguíneos de, 314-318. *Veja também* Hipoglicemia
 sistemas reguladores ativados por, 315f, 316
 síntese de. *Veja* Gliconeogênese
 transporte de
 características do, 312, 312f
 difusão facilitada independente de Na^+ , 96-98, 97-98f
 insulina e, 312, 312f
 no estado absorvivo/alimentado, 325-326, 325-326f, 326-327, 326-327f
 no jejum, 331-332, 332f
 para as células, **96-98**
 sistema por cotransporte monossacarídeo- Na^+ , 96-98
- Glucose, transporte de, sensível à insulina (GLUT4), 312
- Glucose 1,6-bisfosfato, 126, 130
- Glucose 1-fosfato
 conversão em glicose 6-fosfato, 130
- Glucose 6-fosfatase*, 121, 130, 456-457
 deficiência de, 130f
 no jejum, 329-330, 332
- Glucose 6-fosfato
 conversão de glicose 1-fosfato em, 130
 desfosforilação da, 121, 121f
 desidrogenação da, na via das pentoses-fosfato, 145-146, 146f
 inibição da hexocinase pela, 98-99
 isomerização da, 99, 99f
 na glicólise, 98-99
 na gliconeogênese, 121
 no estado absorvivo/alimentado, 326-327
 no jejum, 331-332
- Glucose 6-fosfato-desidrogenase (G6PD)*, 145-146
- Glucose 6-fosfato-desidrogenase*, 148
 biologia molecular da, 153-154
 deficiência de, 103, **152-154**, 153f
 fatores desencadeantes da, 153
 G6PD A-, 153
 mediterrânea, 153, 153f, 153-154
 variantes da, 153, 153f
 nos eritrócitos, papel da, 152-153, 152f
- Glucose 6-fosfato-translocase*, 121, 130
 deficiência de, 130f
- Glucose sanguínea no jejum, 338
- $\alpha(1\rightarrow4)$ -Glicosidase (*maltase ácida*), 130
 deficiência de, 129f
- Glicosidases*, 86-87
- Glicosídeos com ligação N-glicosídica, síntese de, 167-169, 168f
- Glicosídeos O-ligados, síntese dos, 166-167

- Glicosil, resíduos, 86-87
- Glicosilação
de proteínas, 442-443f, 443-444
do colágeno, 45, 46f, 47-48
- Glicosilação, doenças congênitas da, 167
- N-Glicosilação, 167
- Glicosil-fosfatidilinositol (GPI), 206
- Glicosiltransferases*, 85-86, 166-167
- β -*Glicuronidase*, deficiência de, 164f
- Glioxilato, 263-264
- Globina (s). *Veja também* Hemoglobina (s); Mioglobina
- β , 427
- cadeias de, síntese das, 35, 35f
- detectando mutação para globina β^s , 471-472, 472-473f, 476-478
- genes
 α , 34, 34f, 35f
 β , 34f, 35, 35f
 δ , 35
 ϵ , 35
 γ , 35
organização dos, 34-35, 34f
 ζ , 35
- Globinas, genes para as, 34
- Globosídeos, 208-209
- Glucagon, 307, 313-314, 319f
- composição do, 313
- e efetores alostéricos, 122
- e frutose 1,6-bisfosfato, 121
- e glicólise, 105, 105f
- e gliconeogênese, 122
- e metabolismo de carboidratos, 314
- e metabolismo de lipídeos, 314
- e metabolismo do glicogênio, 132-133, 133f
- e triacilgliceróis, 190
- efeitos metabólicos do, 314
- indução de síntese de enzimas por, 122
- mapa conceitual para, 319f
- mecanismo de ação do, 314, 314f
- metabolismo proteico e, 314
- modificação covalente da atividade enzimática pelo, 122, 122f
- na hiperglicemia, 315f, 316
- na hipoglicemia, 315, 315f, 316
- na integração do metabolismo, 307
- na regulação da Acetil-CoA-carboxilase, 183, 184f
- na regulação da HMG-CoA-redutase, 223
- na regulação da transcrição, 455-456
- no diabetes melito, 341
- no estado absoritivo/alimentado, 321-322
- oposição à ação da insulina pelo, 313, 319f
- secreção de, 313-314
- adrenalina e, 313, 313f
- aminoácidos e, 313, 313f
- coordenação com a secreção de insulina, 309, 313
- estimulação da, 313-314
- glicose e, 313, 313f
- inibição da, 313f, 314
- síntese do, 313
- Glutamato (ácido glutâmico), 19f
- cadeias laterais do, 3f, 5-6
- grupo carboxila nas, 5-6
- carboxilação de, 389, 389f
- catabolismo do, 262
- como doador de prótons, 5-6
- como produto da transaminação, 250-252, 251f
- degradação de proteínas contendo, 247
- na desaminação de aminoácidos, 252-253, 253f
- no ciclo da ureia, 253-256
- no rompimento da α -hélice, 16-17
- síntese de, 267-268, 268f
- substituição do
por lisina, na doença da hemoglobina C, 36f, 37
por valina, na anemia falciforme, 36, 36f
- Glutamato, semialdeído do, 262
- Glutamato:oxalacetato-transaminase (GOT)*. *Veja Aspartato-aminotransferase (AST)*
- Glutamato:piruvato-transaminase (GPT)*. *Veja Alanina-aminotransferase (ALT)*
- Glutamato-desidrogenase*, 252-253, 252f, 256, 262
- coenzimas da, 252, 252f
- no jejum, 332
- reguladores alostéricos, 252
- γ -Glutamilcisteinilglicina, 148
- Glutamina
- a amônia da, 256-257, 256f
- cadeias laterais da, 3f, 5-6
- catabolismo da, 262
- como fonte de átomos para a síntese de purinas, 292, 293f
- como fonte de átomos para o anel das pirimidinas, 302, 302f
- no transporte da amônia, 257, 257f
- síntese da, 256f, 268
- Glutamina:fosforribosil-pirofosfato-amidotransferase*, 293, 296
- Glutaminase*, 253, 253f, 256, 256f, 257
- intestinal, 256
- no jejum, 332
- renal, 256
- Glutamina-sintase*, 257, 257f
- Glutamina-sintetase*, 253, 253f, 268
- Glutationa, 152
- como antioxidante, 148
- estrutura da, 148, 148f
- Glutationa-peroxidase*, 148, 150
- Glutationa-redutase*, 148
- Glúten (gliadina), 249
- GM₁, gangliosidose, 212f
- GMP. *Veja* Guanosina-monofosfato (GMP)
- Golgi, aparelho de
- síntese de apolipoproteínas no, 228
- síntese de glicosíngolipídeos no, 209-210
- síntese de glicoproteínas no, 166, 167f, 168f
- síntese de glicosaminoglicanos no, 158
- transporte de glicoproteínas pelo, 166, 167f
- Gônadas. *Veja também* Ovários; Testículos
- secreção de hormônios esteroides pelas, 240
- Gordura, depósito, 189
- Gordura corporal, deposição de diferenças anatômicas na, 350-351, 350-351f
- diferenças bioquímicas na, 350-351
- Gordura marron (adipócitos), 79
- Gordura neutra, 188
- Gordura(s)
- armazenada, mobilização de, 189-195
- corporal, deposição de diferenças anatômicas na, 350-351, 350-351f
- diferenças bioquímicas na, 350-351
- depósitos, 189
- metabolismo de
no estado absoritivo/alimentado, 323-324f, 324-326, 325-326f, 326-327, 326-327f, 327-328, 327-328f
- no jejum, 330-332, 330f, 331-332, 331-332f
- na dieta, 360-365
- conteúdo energético da, 359-360, 359-360f
- e colesterol plasmático, 364
- e doença cardíaca coronariana, 360-361, 361f
- e lipídeos plasmáticos, 361-364
- efeitos da, 364f
- monoinsaturada, 361-362, 362f
- poli-insaturada, 362-363, 362f
- saturada, 361, 362f
- variações aceitáveis na distribuição de, 360, 360f
- neutra, 188
- Gorduras monoinsaturadas, 361-362, 362f, 364f
- Gorduras saturadas, 361, 362f, 364f
- Gota, 299-301, 300f, 301f, 305f
- diagnóstico de, 299, 301f
- na síndrome de Lesch-Nyhan, 296f, 296-297, 300
- primária, 299-300
- saturnina, 299
- secundária, 300-301
- tofécea, 299, 301f
- tratamento da, 300f, 301
- Gota saturnina, 299
- Gota tofécea, 299, 301f
- Gradiente de pH, na fosforilação oxidativa, 77-78
- Gradiente elétrico, na fosforilação oxidativa, 77-79
- Grampo, estrutura em, na transcrição gênica em procariotos, 421, 421f
- Grampo, volta em forma de, 452-453, 452-453f
- Granulomatose crônica, 150
- Grelina, 353, 353f
- Griseofulvina, 279
- GTP. *Veja* Guanosina, trifosfato de *GTPase*, 95-96
- Guanilato-ciclase*, 151
- Guanililtransferase*, 425
- Guanina, 291, 291f, 299, 305f, 396f
- dano e reparo, 411-412, 412-413f
- em códons/no código genético, 431-432, 432f
- pareamento com citosina, 397, 397f, 398f
- Guanina 7-metiltransferase*, 425
- Guanina-difosfato-L-fucose, 166
- Guanina-difosfato-manose, 166
- Guanosina polifosforilada (ppGpp), 453-454
- Guanosina-monofosfato (GMP), conversão do IMP a, 295-296, 295f
- Guanosina-trifosfato (GTP)
- na desaminação de aminoácidos, 252
- na síntese de AMP, 295
- na síntese proteica, 437

H

- HaeIII*, endonuclease de restrição, 466, 466f
- Haemophilus aegyptius*, 466
- Haworth, fórmula de projeção de, 84-85, 85-86f
- HDL. *Veja* Lipoproteínas de alta densidade
- Heinz, corpos de, 152, 152f
- Helicase RNA-DNA dependente de ATP*, 421
- Hélice tripla, no colágeno, 43f, 45, 46f
- α -Hélice, 16-17, 16f
- aminoácidos por volta, 16
- aminoácidos que rompem, 16-17
- na mioglobina, 26, 26f
- Heme, 25, 277
- como coenzima, para a óxido-nítrico-sintase, 151
- conversão do uroporfirinogênio em, 279, 279f
- degradação do, 282-284, 282f, 283f, 284f
- estrutura do, 25, 25f, 26f
- função do, 25
- metabolismo do, 277-279
- mapa conceitual para o, 289f
- síntese do, 278-279, 278-281f
- defeitos na, 278-282, 280f
- inibição pelo produto final, hemina, 278-279
- passo limitante da velocidade, 278-279
- Heme, grupo
- da catalase, 25
- da hemoglobina, 25
- da mioglobina, 25, 26, 26f
- dos citocromos, 25, 25f
- Heme-heme, interações, 28-30

- Heme-oxigenase*, sistema da, 282
Hemeproteínas, 277
 globulares, **25-34**. *Veja também*
 Hemoglobina; Mioglobina
Hemina, 278-279
Hemofilia A, 460-461
Hemoglobina (s)
 α -hélice da, 26-27
 afinidade pelo oxigênio/ligação
 de, 26-33, 27-28f
 2,3-bisfosfoglicerato e, 30-32,
 30-32f
 cooperativa, 28-30, 28-29f
 efetores alostéricos e, 26-33
 ligação do dióxido de carbono
 e, 31-32
 ligação do monóxido de carbono
 e, 31-33, 31-32f
 pCO₂ e, 28-29
 pH e, 29-30, 29-30f
 pO₂ e, 28-29, 28-29f, 29-30
 saturação na, 27-28
 alterações no desenvolvimento
 na, 33, 33f
 associação e dissociação ao
 oxigênio, 29-30, 29-30f
 carbamino, 31-32
 curva de dissociação do oxigênio
 para a, 28-29, 28-29f, 30-31
 significado da forma sigmoide
 da, 29-30
 embrionária (Hb Gower 1), 33
 estrutura da, 26-28, 26-28f, 40f
 alterações com a desoxigenação
 e oxigenação, 26-28, 27-28f
 quaternária, 26-28
 fetal (HbF), 33
 na β -talassemia, 38-39, 38f
 forma de alta afinidade pelo
 oxigênio, 27-28, 27-28f
 forma de baixa afinidade pelo
 oxigênio, 27-28, 27-28f
 forma R (relaxada) da, 27-28,
 27-28f
 forma T (desóxi ou tensa), 27-28,
 27-28f
 função da, 26-27, 40f
 genes
 família β de, 34f, 35, 35f
 δ , 35
 ϵ , 35
 família α de, 34, 34f, 35f
 γ , 35
 organização dos, **34-35**, 34f
 ζ , 35
 grupo heme da, 26
 interações heme-heme na, 28-30
 mapa conceitual para, 40f
 menor, 33-34
 normal no adulto, 33-34, 33f
Hemoglobina A, 26-33
Hemoglobina A_{1c}, 33f, 34, 34f
 no diabetes melito tipo 1, 340,
 340f
Hemoglobina A₂, 33-34, 33f
Hemoglobina de Bart (HbBart)
 na α -talassemia, 39, 39f
 na β -talassemia, 38f, 39
Hemoglobina F, 33f
Hemoglobina fetal (HbF), 33, 33f
 ligação do 2,3-BPG à, 33
 na β -talassemia, 38-39, 38f
 síntese de, 33, 33f
Hemoglobinopatias, **35-39**, 41-42f
Hemoglobinúria paroxística noturna,
206
Hemoproteínas, **25-34**, 25f. *Veja
também* Hemoglobina; Mioglobina
Hemossiderose, 36
Henderson-Hasselbalch, equação
de, 6-7-9
 derivação da, 6-7
 aplicação da, 7-8
 para a titulação de aminoácidos,
 7-9
 para o sistema tampão bicarbonato,
 9, 9f
 para absorção de fármacos, 9, 9f
Heparan sulfato, 159f
 degradação deficiente de, 163,
 164f
Heparan-sulfamidase, deficiência
de, 164f
Heparina, 159f
Hepático, células do parênquima,
fosforilação da glicose em, 98-99
Hepatite
 alcoólica, 318
 icterícia na, 284
 níveis da amônia na, 257-258
Hepatócitos, 449
Heterocromatina, 422, 459-460
Heterotrópicos, efetores, 63
Heterozigoto composto, 38
Hexocinase, 121
 especificidade ampla de substrato
 da, 98-99, 98-99f
 inibição da, 98-99
 na fosforilação da frutose, 137-138,
 138f
 na fosforilação da glicose, 98-99
 na fosforilação da manose, 138
 no estado absorvivo/alimentado,
 326-327
 vs. *glicocinase*, 98-99
Hexocinase D, 98-99
Hexocinase/Glicocinase, 229
D-hexoses, nos oligossacarídeos,
165
Hexoses-monofosfato, via das.
 Veja Pentoses-fosfato, via das
Hibridização *in situ*, 471-472
Híbrido, dúplice, na replicação do
DNA, 402
Hidantoínas, 279
Hidratação
 do fumarato, 112f, 113
Hidratase, 195
Hidrofóbicas, cadeias laterais, 4-5
Hidrofóbicas, interações, 19, 19f
 na hemoglobina, 26-27, 27-28f
Hidrogênio, átomos de, transporte
de elétrons via, 75-76
Hidrolases, 53f
Hidrolases ácidas, 162
Hidrólise
 do AMPc, 95-97, 96-97f
 nas vias catabólicas, 93-94
Hidropisia fetal, 39, 39f
3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA
(HMG-CoA), 220, 220f
3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA
(HMG-CoA)-redutase, 220-221,
232
 fosforilação e desfosforilação
 da, 223, 223f
 inibição da, 232
 regulação da, 223-224, 223f
 regulação da expressão gênica
 dependente de esteroides da,
 222-223, 223f
3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA
(HMG-CoA)-sintase
 na síntese de corpos cetônicos,
 196, 196f
 na síntese do colesterol, 220,
 220f
Hidroxiacil-ACP-desidratase, 186
Hidroxialisina, na biossíntese do
colágeno, 48
3-Hidroxibutirato, 195-196, 196f,
262, 330, 330f
3-Hidroxibutirato-desidrogenase,
196
25-Hidroxicolecalciferol, 386
25-Hidroxicolecalciferol 1-hidroxilase,
386
 regulação da, 386-388
3- β -Hidroxiesteroide-desidrogenase,
deficiência de, 238f
Hidroxila, grupo polar, nas cadeias
laterais dos aminoácidos, 4-5
Hidroxilação
 de proteínas, 443-444, 443-444f
 do colágeno, 45, 45f, 46f, 47-48
11- β -Hidroxilase, deficiência de,
238f
17- α -Hidroxilase, deficiência de,
238f
21- α -Hidroxilase, deficiência de,
238f
 α -Hidroxilase dos ácidos graxos,
195
 α -Hidroxilase, 195
Hidroxilisina, no colágeno, 45, 45f,
46f, 47-48
Hidroximetilbilano, 279, 279f
Hidroximetilbilano-sintase, 281f
Hidroximetilglutaril-CoA-redutase
(HMG-CoA-redutase), 61
Hidroxiprolina
 na elastina, 49
 no colágeno, 45, 45f, 46f, 47-48
5-Hidroxitriptamina. *Veja* Sero-
tonina
5-Hidroxitriptofano, 287, 287f
Hidroxiureia, 36, 297-298
Hiperamonemia, 257-258, 257-258f
 adquirida, 257-258
 hereditária, 257-258
Hiperbilirrubinemia, 284, 284f
Hipercalemia, vitamina D e, 389
Hipercolesterolemia, 224, 226
Hipercolesterolemia familiar, 232
Hiperfosfatemia, 389
Hiperglicemia
 e sorbitol na, 140
 fosforilação da glicose na, 98-99
 no diabetes melito
 tipo 1, 338-339
 tipo 2, 344
Hiperlipidemia tipo II, 232
Hiperlipidemia/hiperlipoprotei-
nemias
 niacina para a, 380
 tipo I, 178, 229
 tipo II, 232
 tipo IIb, 380
 tipo III, familiar, 231
Hiperlipoproteinemia familiar do
tipo III, 231
Hiperlipoproteinemia tipo 1, 229
Hiperossalúria primária do tipo 1,
253
Hiperplasia adrenal congênita,
238, 238f
Hipertensão
 diabetes melito e, 346
 obesidade e, 354f
 tratamento da, 239
Hipertriacilglicerolemia, 229
 no diabetes melito
 tipo 1, 339-340
 tipo 2, 344
Hiperuricemia, 296, 299
Hipervitaminose A, 385-386
Hipocalcemia, 388, 389
Hipófise, hormônios da, na síntese
de hormônios esteroides, 239,
239f
Hipoglicemia, **314-318**, 319f
 características da, 314
 glucagon e, 315, 315f, 316
 induzida pelo álcool, 317-318,
 317f
 induzida por insulina, 316,
 316f
 jejum, 317
 lesão encefálica na, 327-328
 mapa conceitual para a, 319f
 no diabetes tipo 1, 340-341,
 341f
 pós-prandial, 316
 sintomas da, 314-315
 adrenérgicos, 314
 neuroglicopênicos, 314
 sistemas glicorreguladores na,
 315f, 316
 tipos de, 316-318
Hipoglicemia despercebida, 341
Hipoglicemia induzida por insulina,
316, 316f
Hipoglicemia no jejum, 317
Hipoglicemia pós-prandial, 316
Hipoglicêmicos, agentes, para o
diabetes melito tipo 2, 344
Hipoparatiroidismo, 389
Hipopigmentação, na fenilcetonúria,
271
Hipoprotrombinemia, 390
Hipótese da captura do folato,
376-377
Hipótese da oscilação, 437, 437f
Hipotireoidismo, e hipercoleste-
rolemia,
Hipopoxantina, 299
Hipopoxantina-guanina-fosforilob-
siltransferase (HGPRT), 296,
296f, 301
Hipoxia, 2,3-bisfosfoglicerato na,
31-32, 31-32f
Histamina, 287
 síntese de, 287, 287f

- Histidase*, 262, 263-264f
deficiência de, 269f
- Histidina, 5-6
cadeias laterais da, 3f, 5-6
catabolismo da, 262, 263-264f
degradação da, 262, 263-264f
descarboxilação à histamina, 287, 287f
distal, 26, 26f
na mioglobina, 26, 26f
na síntese da histamina, 287f
proximal, 26, 26f
rompimento da α -hélice pela, 17
- Histidinemia, 268f, 269f
- Histona-acetiltransferases*, 422, 422f, 454-455
- Histona-desacetilases*, 422, 422f
- Histonas, 408-410, 408-409f
acetilação das, 422
- HMG-CoA. *Veja* 3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA)
- Hogness, caixa de, 423
- Holoenzimas, 54, 419
- Homocisteína, 263-264
conversão à cisteína, 264-266, 264-265f, 268
conversão da metionina em, 263-264, 264-265f
destino da, 264-265
em doenças vasculares, 263-266, 265-266f
remetilação da, 264-265
- Homocisteína, terapia de redução, 265-266
- Homocistinúria, 268f, 269f, 273, 273f
- Homogentisato-oxidase*, 274
- Homotrópicos, efetores, 62-63
- Hormônio do crescimento (GH), na hiperglicemia, 315f, 316
- Hormônio estimulador de melanócitos tipo α (α -MSH), 353
- Hormônio folículo estimulante (FSH), 239f, 240
- Hormônio liberador de corticotropina (CRH), 239
- Hormônio luteinizante (LH), 239f, 240
- Hormônio paratireoideo (PTH), 388
- Hormônio(s)
contrarreguladores, 313, 316
do tecido adiposo, 352-353
leptina, 353, 353f
esteroides. *Veja* Esteroides, hormônios
gastrointestinal, 310
na degradação de triacilgliceróis, 190, 190f
na regulação da glicólise, **104-105**, 105f
na regulação da *HMG-CoA-redutase*, 223
na regulação do glicogênio, 133-134, 133-134f
na regulação lipídica, 176, 176f
no plasma, 307
- Hormônios, 307
- Hormônios contrarreguladores, 313, 316
- Hormônios gastrointestinais. *Veja também* Colecistocinina, Secretina e secreção de insulina, 310
- Hormônios sexuais, 237
- Hormônios sexuais, proteínas de ligação a, 237
- I**
- Ictericia, 284-285, 284f, 285f
concentração de bilirrubina na, determinação de, 285
hemolítica, 284, 284f, 289f
hepatocelular, 284, 289f
neonatal, 284f, 285, 285f, 289f
fototerapia para a, 285, 285f
obstrutiva, 284-285, 289f
tipos de, 284-285
- Ictericia hemolítica, 284, 284f, 289f
- Ictericia hepatocelular, 284, 289f
- Ictericia obstrutiva, 384-385, 389f
- Icterus. *Veja* Ictericia
- Iduronato-sulfatase*, deficiência de, 164f
- α -L-iduronidase, deficiência de, 164f
- Ilhotas de Langerhans, 307, 308f, 313, 316
- IMP. *Veja* Inosina-monofosfato
- Imunodeficiência combinada grave (ICG, ou SCID), 300f, 301-302
- Imunodeficiência combinada grave ligada ao X, 484-485
- Imunoglobulina G (IgG), 165
- Imunoglobulinas, produção de, 460-461, 460-461f
- Imunotransferência (imunoblot), 483-484, 484-485f
- Incretinas, 310
- Índice de massa corporal (IMC), 349-350, 349-350f, 353f, 354f
- Índice glicêmico, 366, 366f
- Indometacina, 214, 301
- Infarto, na anemia falciforme, 36, 37f
- Infarto do miocárdio, marcadores enzimáticos no, 65f, 66, 66f, 287
- Inflamatórios, processos, na gota, 299
- Influência, nutrição e, 361f
- Ingestão adequada (IA), 358-359, 359-360f
- Ingestão Dietética de Referência, **357-359**, 357-358f
comparação dos componentes na, 358-359, 359-360f
guia para o uso, 358-359, 358-359f
- Inibição competitiva de enzimas, 60-61, 60f
Lineweaver-Burke, gráfico de, 60, 60f, 61, 61f
por estatinas, 61, 61f
- Inibição não competitiva de enzimas, 61-62, 61f, 62f
exemplos de, 61-62
gráfico de Lineweaver-Burk e, 61, 61f
- Inibição pelo produto, 64f
- Inibição pelo produto final, 239
- Iniciador, RNAt, 437-438f, 438-439
- iNOS, 151
- Inosina, para melhorar os níveis de 2,3-BPG no sangue, 31-32
- Inosina-monofosfato (IMP)
como precursor dos demais nucleotídeos púricos, 293
conversão a AMP e GMP, 295-296, 295f
na síntese de purinas, 293-296, 294f
síntese de, 293
- Inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃), 205-206
- Inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃), na transmissão de sinal, 205-206, 205f
- Inositol trifosfato, na sinalização intracelular, 205, 205f
- Inositol-monofosfato-desidrogenase*, 295f
- Insig*, proteína, 223
- Insulina, **307-313**, 353
adrenalina e, 310, 310f, 319f
curso temporal das ações da, 313
deficiência de
absoluta, no diabetes melito tipo 1, 336, 336f
relativa, no diabetes melito tipo 2, 341
degradação da, 308
degradação do glicogênio e, 133
e degradação de triacilgliceróis, 189, 190f
e fosfofrutocinase, 313
e frutose 2,6-bisfosfato, 100, 100f
e glicocinase, 310, 313
e glicólise, 105, 105f
e metabolismo de carboidratos, 311
e síntese proteica, 311
efeitos anabólicos da, 308
efeitos metabólicos da, 311
efeitos na membrana, 312, 312f
em oposição à ação do glucagon, 314, 319f
estrutura da, 308, 308f
exógena. *Veja* Insulina, terapia com
hipoglicemia e
consumo de álcool e, 318
lipase sensível a hormônio e, 190
mapa conceitual para, 319f
mecanismo de ação, 311-313, 311f
na hipoglicemia, 314-318, 315f
na integração do metabolismo, 307
na regulação da Acetil-CoA-carboxilase, 184, 184f
na regulação da *HMG-CoA-redutase*, 223
na transdução de sinal, 311f, 312
no estado absorvivo/alimentado, 328-329f
no metabolismo lipídico, 311
secreção da
aminoácidos e, 310
coordenada com a secreção de glucagon, 309, 314
durante o início do diabetes melito tipo 1, 338, 338f
estimulação da, 309-310
hormônios gastrointestinais e, 310
inibição da, 310
níveis glicêmicos e, 310, 310f
por células β , 310, 310f
regulação da, 309-310, 310f, 313
secreção de glucagon e, 309, 313
síntese da, 308, 308f
síntese de glicerol-fosfato e, 189
- Insulina, receptor, 311-312, 311f
- Insulina, terapia com
hipoglicemia induzida por, 316, 316f, 340-341, 340f
para diabetes melito tipo 1, 340, 340f
padrão vs. intensiva, 340, 340f
para diabetes melito tipo 2, 344
- Insulinase*, 308
- Insulite, 338
- Intermediário comum, para reações de acoplamento, 73
- Intervalos aceitáveis para a distribuição dos macronutrientes (IADM), **360**, 360f
- Intestino delgado
degradação de ácidos nucleicos da dieta no, 297-298, 299f
digestão de oligopeptídeos no, 249
processamento de lipídeos da dieta no, 175
- Intestino(s)
ação bacteriana no, amônia a partir da, 257
delgado
degradação de ácidos nucleicos da dieta no, 297-298, 299f
digestão de oligopeptídeos no, 249
emulsificação de lipídeos da dieta no, 175
formação de urobilina no, 283-284
síntese de colesterol no, 220
vitamina D e, 388
- Intolerância a dissacarídeos, 88
- Intolerância à frutose, 301
- Intolerância à lactose, 88, 88f
- Intolerância hereditária à frutose, 138, 139f
- Intoxicação por amônia, 257
- Íntrons, remoção dos, 426-427, 427f
- Iodeto, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- Iônicas, interações
de aminoácidos, 19, 19f
da hemoglobina, 26-28, 27-28f
- Íons hidreto, transporte de elétrons via, 75-76
- Íons metálicos, como cofatores, 54
- IP₃. *Veja* Inositol-trifosfato
- Isocitrato
isomerização do citrato em, 111f, 112
oxidação e descarboxilação do, 111f, 112

Isocitrato-desidrogenase, 112, 114, 114f, 183
 Isoelétrica, forma, dos aminoácidos, 7, 7f
 Isoelétrico, ponto, para os aminoácidos, 8-9
 Isoenzimas, 65-66, 65f
 e doenças cardíacas, 66, 66f
 estrutura quaternária das, 65-66
 Isoformas, 21, 231, 456-457f
 Isoleucina
 cadeias laterais da, 2f
 catabolismo da, 266-268, 266-267f
 e doença do xarope de bordo, 273
 formação de succinil-CoA e, 265-267
 interações hidrofóbicas e, 19f
 no estado absorvivo/alimentado, 324-325
 rompimento da α -hélice pela, 17
Isomaltase, 87-88
Isomaltase-sacarase, deficiência de, 88
Isomerases, 53f
 Isomerização
 da di-hidroxiacetona-fosfato, 101
 da glicose-6-fosfato, 99, 99f
 do citrato, 111f, 112
 Isômeros, 83-85, 84-85f
 Isômeros ópticos, 5-6, 5-6f
 Isoniazida, 377f, 378
 Isopentenil pirofosfato (IPP), 220-221
 Isoprenoides, 220-221
 Isotretinoína, 385, 385f, 386
Isovaleril-CoA-desidrogenase, deficiência de, 266-267
 Isozimas, 21, 213
 IUBMB, União internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (International Union of Biochemistry and Molecular Biology), nomenclatura de enzimas segundo a, 53, 53f

J

Jejum, **327-330**
 alterações enzimáticas no, 328-330, 328-329f
 cetoacidose e, 197
 depósitos de combustível no início do, 327-328, 329-330f
 depósitos de glicogênio e, 126, 131, 135f
 e rim a longo prazo, 332
 fígado no, **329-332**, 330f
 glicogênio no, 329-330, 329-330f
 hipoglicemia no, 317
 músculo esquelético em repouso no, **331-332**, 332f
 o encéfalo no, **332**, 332f, 333f
 piruvato-carboxilase no, 196
 piruvato-desidrogenase no, 196
 regulação da gliconeogênese no, 123, 123f
 relações entre tecidos no, 334f
 tecido adiposo no, **331-332**, 331-332f
 Joule, 359-360

K

Krebs, ciclo de. *Veja* Ciclo do ácido cítrico
 Kwashiorkor, 369, 369f

L

lac, genes
 lacA, 451f, 452
 lacI, 451f, 452
 lacY, 451f, 452
 lacZ, 451f, 452
 α -Lactalbumina, 142
 β -Lactâmicos, antibióticos, 62
Lactase, 87-88, 140, 141
 Lactato, 96-97
 consumo de, 103
 formação no músculo, 103
 na gliconeogênese, 118
 no ciclo de Cori, 118, 118f
 redução do piruvato a (glicólise anaeróbia), 103-104, 104f
Lactato-desidrogenase (LDH), 103, 111
 Lactais, 178
 Lactose, 85-86, 140, 365
 na regulação da expressão gênica, 451f, 452
 síntese da, **142**, 142f
 Lactose, operon, 450-452, 451f
Lactose-sintase, 142
 Lactosilceramida, 208-209
 Lançadeira de carnitina, 190-191, 191f
 Lançadeira do malato-aspartato, 79f, 80
 Lanosterol, 220-221
 LDH. *Veja* *Lactato-desidrogenase*
 LDL. *Veja* Lipoproteínas de baixa densidade
 L-dopa (levodopa), 286
 Lecitina. *Veja* Fosfatidilcolina
 Leishmania, 206
 Leptina
 na obesidade, 352-353, 352f, 353f
 no diabetes melito, 343
 Leucemia, 262
 Leucemia mieloide crônica, 297-298
 Leucina, 19f
 cadeias laterais da, 2f
 catabolismo da, 262, 266-268, 266-267f
 degradação da, 266-267, 266-267f
 na doença do xarope de bordo, 273
 no estado absorvivo/alimentado, 324-325
 Leucócitos
 como fonte de DNA, 476
 fagocitose pelos, 150, 150f
 Leucodistrofia
 células globoides, 212f
 metacromática, 212f
 Leucotrienos, 213-214
 LTA4, 213f, 215f
 LTB4, 215f
 LTC4, 215f
 síntese dos, 214, 215f
 Liases, 53f

Ligação α -1,4, 126, 126f, 127, 128
 Ligação α -1,6, 126f
 Ligação cooperativa
 de proteínas de ligação de hélice simples no DNA, 400
 do oxigênio, pela hemoglobina, 28-29, 28-29f
 Ligação éter
 em plasmalogênios, 202, 202f
 no fator de ativação plaquetário, 202, 202f
 Ligações de hidrogênio
 em aminoácidos, 4-5, 4-5f, 19, 19f
 em folhas β , 17, 17f
 entre pares de bases complementares, 397, 397f, 398f
 intercadeias, 17
 intracadeia, 17
 na α -hélice, 16
 na hemoglobina, 26-28, 27-28f
 Ligações dissulfeto, 4-5, 18f, 19, 296-297, 311-312
 Ligações fosfodiéster, no RNA, 417
 Ligações fosfodiéster 3'→5', 396-397, 396f
 Ligações glicosídicas, 83-84, 84-85f
 α (1→4), 128, 128f, 130
 α e β , 85-86
 carboidratos com estruturas de compostos não carboidratos, 85-86, 86-87f
 designação das, 85-86
 entre monossacarídeos, 85-86
 hidrólise de, 86-87, 86-87f
 no glicogênio, 126, 126f, 127f, 128
 clivagem de, 128, 128f, 129f
 N-, 86-87, 86-87f
 em glicoproteínas, 165
 O-, 86-87, 86-87f
 em glicosíngolipídeos, 208-209, 208-209f
 em glicoproteínas, 165
 em glicosaminoglicanos, 158
 Ligações O-glicosídicas, 86-87, 86-87f
 nas glicoproteínas, 165
 nos glicosíngolipídeos, 208-209, 208-209f
 nos glicosaminoglicanos, 158
 Ligações peptídicas, 1, 1f, 13-14, 14f. *Veja também* Polipeptídeos
 características das, 14, 14f
 caráter de ligação dupla parcial das, 14, 14f
 caráter rígido e planar, 14, 14f
 configuração trans das, 14, 14f
 designação, 14
 formação das, 13, 14f
 polaridade, 14, 14f
 Ligandina, 282
 Ligante, DNA, 409-410, 409-410f
 Ligases. *Veja também* ligases específicas
 classificação das, 53f
 Lineweaver-Burk, gráfico de, 59, 59f, 60, 60f, 61f
Lipase gástrica, 173, 174
Lipase hepática, 228

Lipase lingual, 173, 174
Lipase lipoproteica, 178, 228-230, 311
 ativação da, 231
 deficiência da, 178, 228-229
 degradação de triacilgliceróis pela, 228-229
 insulina e, 311
 no diabetes melito
 tipo 1, 339-340
 tipo 2, 344
 no estado absorvivo/alimentado, 325-327
 no jejum, 331-332
 regulação da, 229-230
Lipase pancreática, 175
Lipase sensível a hormônios, 190, 190f
 insulina e, 311
 no estado absorvivo/alimentado, 322-323, 322-323f, 325-326
 no jejum, 329-330
 Lipídeos
 complexos. *Veja também* Glicosíngolipídeos; Fosfolipídeos
 metabolismo dos, **201-218**
 da dieta
 absorção pelas células da mucosa intestinal, 176, 177f
 degradação por enzimas pancreáticas, 174f, 175-176
 digestão dos, 173-178, 174f
 e doença cardíaca coronariana, 361-364
 em neonatos, 174
 emulsificação no intestino delgado, 175
 má absorção dos, 177, 178f
 mapa conceitual dos, 180f
 metabolismo dos, **173-180**, 180f
 processamento no estômago, 173-174
 regulação hormonal dos, 176, 176f
 uso pelos tecidos, 178
 estrutura dos, 173, 173f
 funções dos, 173
 glucagon e, 314
 insulina e, 311
 níveis plasmáticos dos, gorduras da dieta e, 361-362, 361f
 no jejum, 332, 332f
 secreção pelos enterócitos, 177-178, 177f
 Lipoproteínas
 colesterol nas, 227, 228f
 composição das, 227, 231, 232f
 de alta densidade (HDL). *Veja* Lipoproteínas de alta densidade
 de baixa densidade (LDL). *Veja* Lipoproteínas de baixa densidade
 de densidade intermediária (IDL), 231
 de densidade muito baixa (VLDL). *Veja* Lipoproteínas de densidade muito baixa
 em doenças cardíacas, 237
 mapa conceitual das, 243f
 mobilidade eletroforética das, 227, 228f

- no plasma, **227-237**
tamanho e densidade das, 227, 227f
- Lipoproteínas de alta densidade (HDL), 234-236, 321-322f
ácidos graxos n-6 e, 363
captação de colesterol não esterificado pelas, 234, 236f
transferência de triacilgliceróis das VLDL para, 231
como reservatório para apolipoproteínas, 234
como transportador do “bom” colesterol, 236
composição das, 232f
consumo de álcool e, 365
e doença cardíaca coronariana, 360-361
gorduras da dieta e, 361-364
HDL₂, 235, 236
HDL₃, 235, 236
metabolismo das, 234-236, 236f
mobilidade eletroforética das, 227, 228f
na esterificação do colesterol, 234-235
na obesidade, 353, 354
tamanho e densidade das, 227, 227f
transporte reverso do colesterol pelas, 235-236, 236f
- Lipoproteínas de baixa densidade (LDL), 227, 227f, 231-234, 232f
ácidos graxos n-6 e, 363
como glicoproteínas carregadas negativamente, 232
composição das, 231, 232f
conversão à VLDL, no plasma, 231
e doença cardíaca coronariana, 360-361
endocitose das, 232, 233f
ingestão de colesterol na dieta e, 364, 364f
metabolismo das, 230f, 231-234, 233f
mobilidade eletroforética das, 227, 228f
modificadas quimicamente, captação por receptores “removedores” nos macrófagos, 234, 235f
niacina e, 380
oxidação das, 234, 235f
receptores funcionais das, deficiência de, 232
tamanho e densidade das, 227, 227f
- Lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), 231
- Lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), 189, 227, 227f, 228f, 231, 231f, 232f
circulantes, modificação das, 231, 231f
composição das, 232f
conversão a lipoproteínas de baixa densidade no plasma, 231
liberação de, 230f, 231
metabolismo das, 230f, 231
mobilidade eletroforética das, 227, 228f
- na obesidade, 353
niacina e, 380
no diabetes melito
 tipo 1, 339-340, 339f
 tipo 2, 344
no estado absorvivo/alimentado, 323-324f, 324-325
tamanho e densidade das, 227, 227f
- Lipoproteínas plasmáticas, **227-237**. *Veja também* Lipoproteína(s)
- Lipoxigenase*, 214
5-Lipoxigenase, 214
Lipoxinas, 214
- Lisil-hidroxilase
deficiência de, e síndrome de Ehlers-Danlos, 48
e hidroxilação do colágeno pela, 47-48
- Lisil-oxidase
na biossíntese do colágeno, 48, 48f
polipeptídeos da tropoelastina desaminados pela, 49
- Lisina, 266-267
cadeias laterais da, 3f, 5-6
catabolismo da, 262
como fonte de carnitina, 191
e rompimento da α -hélice, 17
ligações iônicas e, 19f
na doença da hemoglobina C, 37
na elastina, 49
nas histonas, 409-410
no colágeno, 47-48, 48f
 hidroxilação do, 45, 45f, 46f, 47-48
transporte da, 250
- Lisinopril, 62
- Lisofosfatidilcolina, 175, 234
- Lisofosfoglicerídeos, 207
- Lisofosfolipase*, 176
- Lisofosfolipídeos, 175
- Lisossomais, enzimas, 247
- Lisossômica, degradação de glicosaminoglicanos, 163
- Lisossomo(s), 54f
na degradação
 de glicofosfolipídeos, 209-210
 de glicogênio, 130-131
 de glicoproteínas, **170**
 de glicosaminoglicanos, 162-163, 164f
 de proteínas, 246-247
 de remanescentes de quilomicra, 230
transporte de glicoproteínas para os, 169, 169f
- L-Metilmalonil-CoA, 194
- Lovastatina, 224
- Lúpus eritematoso sistêmico, 247
- Luta ou fuga, reação de, 285, 307
- M**
- Macrófagos, óxido nítrico e, 151
- Macronutrientes, 357-358
consumo calórico e distribuição de calorias, 365, 365f
mapa conceitual dos, 370f
variações aceitáveis na distribuição dos, **360**, 360f
- Magnésio, Ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- Malária, resistência a
deficiência de G6PD e, 152
traço de anemia falciforme e, 37, 38f
- Malato
formação a partir do α -cetoglutarato, 112f
formação do oxalacetato a partir do, 113, 113f
hidratação do fumarato a, 112f, 113
na gliconeogênese, 119, 119f
no ciclo da ureia, 254f, 255
oxidação do, 113, 113f
redução do oxalacetato a, 119, 119f
- Malato-desidrogenase*, 113, 119
Malato-desidrogenase dependente de NADH, 186
Malato-desidrogenase dependente de NADP⁺, 152, 186
- Malonil-CoA
carboxilação da acetil-CoA a, 183-184, 184f
inibição da lançadeira da carnitina por, 191, 191f
- Malonil-CoA-ACP-transacilase*, 184
- Maltase*, 87-88
Maltase ácida, 130
- Maltose, 85-86, 365
- Manganês, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- Manose
como epímero, 83-84, 84-85
como isômero, 83-84, 84-85f
conversão em frutose 6-fosfato, 138
- Manose 6-fosfato, 138
- α -manosidose do tipo 1, 170
- Mapa de restrição, 467
- Mapa metabólico, 91, 93, 92f
- Mapas conceituais, **10**
para a estrutura e síntese do RNA, 429f
para a fosforilação oxidativa, 81f
para a glicólise, 107f
para a gliconeogênese, 123f
para a integração do metabolismo energético, 319f
para a obesidade, 355f
para a regulação da expressão gênica, 463f
para a síntese proteica, 446f
para a transcrição, 429f
para a via das pentoses-fosfato, 155f
para enzimas, 67f
para estrutura, replicação e reparo do DNA, 414-415f
para glicoproteínas, 171f
para glicosaminoglicanos, 171f
para macronutrientes, 370f
para monossacarídeos, 89f da dieta, 143f
para o ciclo alimentado/jejum, 335f
para o ciclo do ácido cítrico, 115f
para o colesterol, 243f
- para o diabetes melito, 347f
para o metabolismo da frutose, 143f
para o metabolismo da galactose, 143f
para o metabolismo de ácidos graxos, 199f
para o metabolismo de lipídeos dietéticos, 180f
para o metabolismo de triacilgliceróis, 199f
para o metabolismo do glicogênio, 135f
para o metabolismo do heme, 289f
para o metabolismo do nitrogênio, 259f
para o metabolismo dos nucleotídeos, 305f
para o NADPH, 155f
para os aminoácidos, 11f
 metabolismo de, 275f
símbolos usados nos, 10f
- Marasmo, 369
- Materna, síndrome da fenilcetonúria, 272
- Matriz extracelular
colágeno na, 43
glicosaminoglicanos e, 157-158
precursores do colágeno na, 45
- Meandro β , 18f
- Medicamentos anticâncer
bloqueio da replicação do DNA, 408-409, 408-409f
como inibidores da síntese de desoxirribonucleotídeos, 297-298
como inibidores da síntese de purinas, 293, 294f, 295
como inibidores da timidilato-sintase, 303-304
intercalando-se na dupla-fita do DNA, 397
tendo a DNA-girase como alvo, 401
- Medula adrenal, *tirosina-hidroxilase* na, 286
- Medula óssea
histologia em indivíduos normais e com deficiência de folato, 375-376f
síntese de heme na, 278-279
- Melanina, 288
na fenilcetonúria, 271
no albinismo, 273
- Melanócitos, 288
- Melatonina, 287
- Membrana, proteínas de ancoramento à, 206, 206f
- Membrana, sistemas de transporte, 79-80
- Membrana celular, fosfolipídeos na, 201
- Membrana em forma de escova
absorção de lipídeos pela, 176
digestão dos carboidratos na, 86-87
- Membrana interna, partículas da, 73-74
- Menadiona, 389
- Menaquinona (vitamina K₂), 389

- Mensageiro, RNA (RNAm)
 codificação para a síntese proteica, 434-435
 códons do, 431-432, 432f
 mutações em, 432f, 433-434, 433-434f
 reconhecimento pelo RNAt, 437, 437f
 edição, 456-458, 456-457f
 estabilidade do, 457-460, 457-460f
 eucariótico, 418, 419f, 425-427, 426f
 modificação pós-transcricional do, 425-427, 426f, 453-454, 456-460
 éxons do, corte-junção dos, 426-427, 426f
 expansão de repetições trinucleotídicas, 433, 433f
 íntrons do, 426
 remoção dos, 426-427, 427f
 monocistrônico, 437-438
 mutação com perda de sentido, 432f, 433
 mutação do sítio de corte-junção, 427
 mutação sem sentido, 432f, 433
 mutação silenciosa, 432f, 433
 mutações com alteração do módulo de leitura do, 433-434, 433-434f
 níveis de, determinação de, 482-484, 483-484f
 padrões alternativos de corte-junção do, 427, 428f
 policistrônico, 437-438, 450
 proteína ribossomal reguladora e, 453-454, 453-454f
 tradução do, 431-443, 431-432f, 459-460, 459-460f
 componentes necessários para, 433-437
 iniciação da, 437-439, 440f
 passos da, 437-442, 440-441f
 transcrição do, 450
 Metabolismo, 73f, 91, 93-94, 92f
 ciclo do ácido cítrico, no, 109-110
 definição, 91, 93
 erros inatos do, 268-274
 integração do, 307
 mapa conceitual para o, 319f
 quatro principais órgãos no, 307
 comunicação entre os, 307, 307f
 regulação do, 93-97
 pela cascata da adenilato-ciclase, 94-97, 95-96f
 por sinais de segundos mensageiros, 94
 por sinais intercelulares, 94
 por sinais intracelulares, 94
 Metabolismo de lipídeos
 no estado absorvivo/alimentado cerebral, 327-328, 327-328f
 hepático, 323-324f, 324-325
 músculo esquelético no repouso, 326-327, 326-327f
 tecido adiposo, 325-326, 325-326f
 no jejum
 hepático, 330-332, 330f
 tecido adiposo, 331-332, 331-332f
 Metabolismo energético, integração do, 307, 307f, 319f
 Metaloporfirinas, 277. *Veja também* Porfirinas
 Metanol, 267-268
 Metemoglobina (Hb M), 38
 Metemoglobinemias, 38
 Metformina, 344
 Metila, grupo ativado na SAM, 264-265
 Metilação, e S-adenosilmetionina, 459-461
 Metilcobalamina, 264-265, 264-265f, 375-376, 376-377f
 3-Metilcrotonil-CoA-carboxilase, 266-267
 N⁵-N¹⁰-Metileno, 376-377
 N⁵-N¹⁰-Metileno-tetra-hidrofolato, 263-264, 263-264f
 7-Metil-guanosina, quepe, 426, 426f
 D-Metilmalonil-CoA, 194
 Metilmalonil-CoA-mutase, 194
 deficiência de, 268f, 269f
 Metilmalonil-CoA-racemase, 194
 Metionina
 cadeias laterais da, 2f
 catabolismo da, 263-266, 264-265f
 como fonte de carnitina, 191
 nova síntese da, 264-265, 264-265f
 síntese da, 375-376, 375-376f
 Metotrexato
 absorção de ácido fólico e, 375-376
 como inibidor da di-hidrofolato-redutase, 304, 375-376
 como inibidor da síntese de purinas, 293, 294f, 304, 304f
 Micelas mistas, 176, 177, 177f
 Michaelis, constante de (K_m), 59, 59f
 aparente, inibição competitiva e, 60, 60f
 efetores alostéricos e, 62f, 63
 inibição não competitiva e, 61, 61f
 Michaelis-Menten, equação, 58-59
 Micronutrientes, 357-358. *Veja também* Vitaminas
 MicroRNA (RNAmi), 458-459
 Microsatélites de DNA, 475, 482-484, 483-485f
 Microsomal, proteína transferidora de triacilglicerol, 177-178, 288
 Microsomal, sistema citocromo-P450-monoxigenase, 279
 Mieloperoxidase (MPO), sistema da, 150
 Mineralocorticoides, 237
 Miofosforilase, deficiência de, 129f
 Mioglobina, 16
 afinidade/ligação pelo oxigênio, 27-29
 conteúdo α-helicoidal da, 26, 26f
 curva de dissociação do oxigênio à, 27-29, 28-29f
 estrutura da, 26, 26f
 função da, 26
 grupo heme da, 25, 26, 26f
 resíduos de aminoácidos polares e apolares na, 26
 Miopatias mitocondriais, 80, 80f
 Miosina de cadeia leve, cinase da, 151
 Mitchell, hipótese de, 77-79
 Mitocôndria, 54f, 73-74
 apoptose e, 80
 cristas da, 73-74
 estrutura da, 73-74, 73-74f
 matriz da, 73-74, 73-74f
 membrana interna da
 cadeia de transporte de elétrons na, 73-74
 cardiolipina na, 202
 síntese de ATP na, 73-74, 73-74f
 sistemas de transporte na, 79-80, 79f
 oxidação de ácidos graxos na, 190-192, 191f
 síntese de porfirinas na, 278-279
 sistema citocromo-P450-monoxigenase da, 149
 Mitocôndria, sequência de entrada na, 442-443
 Mitochondrial, DNA, 80
 mutações do, 80
 Mitochondrial, RNA-polimerase, 424
 Modificação covalente
 de enzimas, 63, 64f
 glucagon e, 122, 122f
 no estado absorvivo/alimentado, 321-322f, 322-323
 no jejum, 328-330
 de proteínas, 442-443f, 443-444, 443-444f
 Modificação covalente mediada por proteína-cinase A, 455-457
 Molibdênio, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
 2-Monoacilglicerol, 174f, 175-176
 Monoacilglicerol aciltransferase, 176, 177f
 Monoaminoxidase (MAO), metabolismo das catecolaminas e, 286, 286f
 Monoaminoxidase, inibidores da, 286-287
 Monocistrônico, RNAm, 437-438
 Monócitos, 150
 Monossacarídeos, 83-86, 83-84f, 365
 absorção pelas células da mucosa intestinal, 87-88
 ceramida, 208-209
 ciclicização dos, 84-86
 classificação dos, 83-84, 83-84f
 da dieta, 143f
 exemplos de, 83-84, 83-84f
 formas anoméricas dos, 84-85, 85-86f
 ligações glicosídicas entre, 83-84, 84-85f
 mapa conceitual, 89f
 metabolismo dos, 137-144
 mapa conceitual para o, 143f
 mutarotação dos, 84-85, 85-86f
 união dos, 85-86
 Monóxido de carbono, envenenamento por, 33
 Monóxido de carbono, ligação do, e afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, 31-33, 31-32f, 40f
 Monoxigenases (oxidases de função mista), 149
 Mortalidade, obesidade e, 354, 354f
 Motivos estruturais, 450
 Motivos proteicos, 18, 18f, 19
 Moxalactama, 390
 MstII, endonuclease de restrição, 476-477, 478f
 Mucina, 165, 165f
 Mucopolissacarídeos, 157-158. *Veja também* Glicosaminoglicanos
 Mucopolissacarídeos, 163, 164f
 Mucosa intestinal, células da
 absorção de lipídeos por, 176, 177f
 absorção de monossacarídeos por, 87-88
 enzimas sintetizadas pelas, digestão de carboidratos por, 86-88, 87-88f
 formação dos quilomícrons, 177f, 228, 229f
 secreção de lipídeos por, 177f, 178
 Músculo cardíaco
 deficiência de carnitina no, 192
 lipase lipoproteica no, 228
 mioglobina no, 26
 vs. músculo esquelético, 326-327
 Músculo esquelético
 cálcio e, 131-132, 132f
 contração do, 131
 deficiência de carnitina no, 192
 em repouso
 ácidos graxos como combustível, 332
 consumo de oxigênio no, 326-327
 no estado absorvivo/alimentado, 325-327, 326-327f
 metabolismo de aminoácidos no, 326-327, 326-327f
 metabolismo de carboidratos no, 326-327, 326-327f
 metabolismo de gorduras no, 326-327, 326-327f
 relações com outros tecidos, 328-329f
 no jejum, 331-332, 332f
 metabolismo de carboidratos no, 331-332, 332f
 metabolismo de lipídeos no, 332, 332f
 metabolismo de proteínas no, 332, 332f
 formação de lactato no, 103, 118
 lipase lipoproteica no, 228
 mioglobina no, 26

no exercício, glicogênio como combustível para o, 332
reservas de glicogênio no, 125-126, 126f, 131-132, 131f, 133f
Músculo liso, óxido nítrico e relaxamento do, 150-151, 151f
Músculo(s)
cardíaco
deficiência de carnitina no, 192
lipase lipoproteica no, 228
mioglobina no, 26
vs. esquelético, 326-327
comunicação com outros órgãos metabólicos, 307, 307f
esquelético
cálcio e, 131-132, 132f
contração do, 131
deficiência de carnitina no, 192
formação de lactato no, 103, 118
glicogênio no, 125-126, 126f, 131-132, 131f, 133f
lipase lipoproteica no, 228
mioglobina no, 26
no exercício, glicogênio como combustível para o, 332
no repouso, **331-332**, 332f
ácidos graxos como combustível para o, 332
consumo de oxigênio no, 326-327
no estado absorvivo/alimentado, **325-327**, 326-327f
no jejum, **331-332**, 332f
vs. cardíaco, 326-327
liso, óxido nítrico e relaxamento do, 150-151, 151f
no diabetes melito
tipo 1, 338, 339f
tipo 2, 342, 344
papel metabólico do, 307, 307f
Mutação, 410-411, 475
com alteração do módulo de leitura, 433-434, 433-434f
com perda de sentido, 432f, 433
detecção de, usando transferência de Southern, 472-473
do sítio de corte-junção, 427, 433-434
expansão de repetições trinucleotídicas, 433, 433f
sem sentido, 432f, 433
silenciosa, 432f, 433
Mutação com perda de sentido, 432f, 433
Mutação sem sentido, 432f, 433
Mutação silenciosa, 432f, 433
Mutações com alteração do módulo de leitura, 433-434, 433-434f
Mutarrotação, 84-85, 85-86f

N

NAD⁺. *Veja* Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH, 73
formação do
na cadeia transportadora de elétrons, 75

na glicólise, 101
na oxidação de ácidos graxos, 192, 193f
na conversão de piruvato em lactato (glicólise anaeróbia), 97-98, 103-104, 103f
na hipoglicemia induzida por álcool, 317, 317f
no ciclo do ácido cítrico, 111, 111f
oxidação a NAD⁺, 75-76, 77f
transporte de, para a membrana mitocondrial interna, 79-80, 79f
NADH-citocromo-b₅-redutase (NADH metemoglobina-redutase), 38
NADH-desidrogenase, 75, 75f
NADPH
como inibidor competitivo da G6PD, 145-146
estrutura do, 147f
mapa conceitual para, 155f
na biossíntese redutora, 147
na deficiência de G6PD, 152
na fagocitose, 150, 150f
na redução do peróxido de hidrogênio, 148-149, 148f
na síntese de ácidos graxos, 186, 186f
na síntese de esfingomielina, 206, 207f
na síntese de hormônios esteroides, 237, 238f
na síntese do colesterol, 220-221, 220-221f
na síntese do óxido nítrico, 150-151, 151f
na via das pentoses-fosfato, 145-146
no sistema *citocromo-P450-monooxigenase*, 149-150, 149f
produção, na via das pentoses-fosfato, 145-146, 146f
usos de, **147-151**
NADPH-oxidase, 150
deficiência de, 150
Necessidade energética estimada, 358-359
Necessidade Média Estimada (NME), 357-358, 358-359f
Nefropatia, 345
Nefropatia diabética, 344f, 345
metabolismo do sorbitol e, 140
Neomicina, 255
Neonatos
deficiência de vitamina K em, 390
icterícia em, 284, 285, 285f, 289f
deficiência de G6PD e, 153
fototerapia para a, 285, 285f
prematuros, deficiência de vitamina E em, 391
triagem para a fenilcetonúria em, 270, 271
Neurocan, 158
Neurodegeneração, na doença de Niemann-Pick, 208
Neuroglicopenia, 315
Neuropatia diabética, 344f, 345
metabolismo do sorbitol e, 140

Neuropatia óptica hereditária de Leber, 80
Neuropeptídeo Y (NPY), 353
Neurotransmissor (es)
na regulação metabólica, 94, 94f, 95-96
óxido nítrico como, 150-151, 151f
Neutrófilos, 150
Niacina, 54, **379-380**, 392-393f
deficiência de, 380, 393f
os três Ds da, 380
distribuição da, 380
estrutura da, 379f, 380
formas ativas da, 379, 379f, 392f
funções da, 380-381
indicações clínicas da, 380
ingestão dietética de, 380
fontes de, 380
ingestão dietética de referência para a, 358-359f
para a hiperlipidemia, 380
Nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺), 73, 75, 379-380, 379f, 392f
como coenzima, 54
para a desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada, 266-267
para o complexo da α -ceto-glutarato-desidrogenase, 112, 112f
para o complexo da piruvato-desidrogenase, 110-111, 111f
estrutura da, 379f
forma reduzida da, 380, 380f.
Veja também NADP⁺
na conversão de piruvato a lactato (glicólise anaeróbia), 103, 103f
na matriz mitocondrial, 73-74
no ciclo do ácido cítrico, 113, 113f
oxidação do NADH a, 75-76, 77f
vs. NADPH, 147
Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP⁺)
estrutura da, 379f
forma reduzida da, 380, 380f
Ninidrina, 15
Níquel, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
Nitrogênio
destino do, **245-260**
como amônia, **256-258**
na digestão proteica, 247-249
no ciclo da ureia, 245f, 253-256, 253-255f
metabolismo do, **245-247**
mapa conceitual do, 259f
nas proteínas da dieta, 245, **247-249**
remoção a partir dos aminoácidos, 245, **250-253**, 259f
Nitroglicerina, 151
Nitroprussiato, 151
Níveis máximos tolerados de ingestão (NM), 358-359, 359-360f

nNOS, 151
Nocaute, camundongos, 484-486
Noradrenalina
funções da, 285
grupo metila e, 264-265
no jejum, 331-332
no metabolismo energético, 307
síntese de catecolaminas e, 285-286, 286f
NO-sintase, 151
NPY, 353
N-Terminal, aminoácido, 247
N-Terminal, resíduo
na degradação proteica, 247
Núcleo esteroide, 219-220
hidroxilação do, 237
Nucleofilamentos, 410-411
Nucleoides, 398
Nucleolar, RNA pequeno (snoRNA), 418, 422, 424-425, 427f
Nucléolo, síntese de RNA no, 422
Nucleoplasma, síntese de RNA no, 422
Nucleoproteína, 396
Nucleosídeo (s), 292. *Veja também* Nucleotídeo(s)
Nucleosídeo-5'-fosfato, 292
Nucleosídeo-difosfato-cinase, 112, 127, 296, 296f
Nucleosídeo-monofosfato (NMP), 292
conversão a nucleosídeos di e trifosfato, 296, 296f
Nucleosídeo-monofosfato-cinase, 296, 296f
Nucleosídeos, análogos de, inibição da síntese de DNA por, 407-409, 408-409f
Nucleosídeos difosfato (NDP), 292
conversão de nucleosídeos monofosfato a, 296, 296f
Nucleosídeo-trifosfato (NTP), 292
conversão de nucleosídeo-monofosfato em, 296, 296f
Nucleossomos, 422
destino na replicação do DNA, 410-411
formação de, 408-410, 409-410f
5'-Nucleotidase, 299
5'-Nucleotídeo, 292
Nucleotídeo(s), 292
bases incomuns dos, 291-292, 292f
estrutura dos, **291-292**, 291f, 292f
funções dos, 291
ligação de alta energia dos, 292, 293f
metabolismo dos, **291-306**
mapa conceitual para o, 305f
pentoses adicionadas aos, 292, 292f
pirimídicos
degradação dos, 304
estrutura dos, 291-292, 291f, 292f
formação dos, 302-303, 303f
síntese dos, **302-304**, 303f, 305f
via de salvação para, 304

- púricos
 conversão de bases púricas a, 296, 296f
 degradação dos, 297-302, 300f, 305f
 estrutura dos, 291-292, 291f, 292f
 precursores, inosina-monofosfato como, 293
 síntese dos, **292-297**, 305f
 drogas que afetam a, 293, 294f, 305f
 passo comprometido da, 293, 294f
 via de salvação para, 296-297, 296f
 síntese de, 291
- Nucleotídeos pirimídicos
 degradação dos, 304
 estrutura dos, 291-292, 291f, 292f
 formação dos, 302-303, 303f
 síntese de, **302-304**, 303f, 305f
 via de salvação para os, 304
- Nucleotídeos púricos
 conversão de bases púricas em, 296, 296f
 degradação de, **297-302**, 300f, 305f
 doenças associadas a, 299-302, 300f, 301f
 estrutura dos, 291-292, 291f, 292f
 precursor, inosina monofosfato como, 293
 síntese de, **292-297**, 305f
 fármacos que afetam a, 293, 294f, 305f
 passo comprometido na, 293, 294f
 via de salvação para os, 296-297, 296f
- Nucleotidil-transferase*, 425
- Número de renovação, 54
- Nutrição, **357-372**
 e câncer, 360, 361f
 influência sobre causas comuns de morte, 361f
 ingestão dietética de referência na, **357-359**, 357-359f
 macronutrientes na, **360**, 360f
 mapa conceitual para, 370f
 vitaminas na, **372-394**
- Nutrientes, 357-358
 classes de, 357-358, 357-358f
 disponibilidade de, e metabolismo, 94
 distribuição hepática de, **322-325**
 variações aceitáveis na distribuição de macronutrientes, 360, 360f
- O**
- Obesidade, **349-356**
 alterações metabólicas na, **353**
 causa de, 351-352
 células adiposas na, 351-352, 351-352f
 cintura, 350-351, 350-351f
 deposição de gordura na
 diferenças anatômicas na, 350-351, 350-351f
 diferenças bioquímicas na, 350-351
- determinação de, **349-351**
 doenças associadas a, risco relativo de desenvolver, 349-350, 354
 e diabetes melito, 349-350, 354
 e mortalidade, 354, 354f
 e resistência à insulina, 342, 342f, 346f, 353
 e saúde, 354
 epidêmica nos EUA, 349-350
 farmacoterapia para, 355
 fatores ambientais e comportamentais na, 352
 fatores genéticos na, 352
 índice de massa corporal na, 349-350, 349-350f, 353f, 354f
 ingestão de carboidratos e, 365
 mapa conceitual para, 355f
 moléculas que influenciam a, **352-353**
 moléculas sinalizadoras aferentes na, 353, 353f
 na infância, 349-350
 quadril, 350-351, 350-351f
 redução de peso na, **354-355**
 tecido adiposo na, 352-353, 353f
 tratamento cirúrgico para, 355
- Obesidade abdominal, 350-351, 350-351f
- Obesidade da região do quadril, 350-351, 350-351f
- O-glicosídeos, 86-87, 86-87f
- Okazaki, fragmentos de, 403, 406-407
- Óleo de peixe, 363, 363f
- Óleos, 188
- Oligo- $\alpha(1\rightarrow4)\alpha(1\rightarrow4)$ -glucan-transferase*, 130
- Oligomicina, 78
- Oligonucleotídeo (s), 297-298
- Oligopeptídeos, digestão de, 249
- Oligossacarídeo (s), 83-86
 ceramida, 208-209
 com alto conteúdo de manose, 166, 166f
 com ligações N-glicosídicas, 165, 166
 síntese dos, 167-169, 168f
 com ligações O-glicosídicas, 165
 síntese dos, 166-167
 complexos, 166, 166f
 ligação carboidrato-proteína nos, 165
 ligados ao dolicol, 167
 ligados ao dolicol, 167
 síntese dos, 167, 168f
 nas glicoproteínas, estrutura dos, **165-166**, 166f
- Oligossacarídeos com alto conteúdo de manose, 166, 166f, 168
- Oligossacarídeos N-ligados, 165, 166
 processamento final de, 168, 169f
- Oligossacarídeos O-ligados, 165-167
- Oligossacaridoses, 169, 170
- Ômega (ω), oxidação, dos ácidos graxos, 195
- Ômega-6, ácidos graxos, 363
- Operadores, na transcrição em procariotos, 450
- Óperon do triptofano, 452-453, 452-453f
- Óperons
 bacterianos, 450
 da lactose, 450-452, 451f
 do triptofano, 452-453, 452-453f
- Óperons bacterianos, transcrição de, 450-452, 451f
 quando a glicose é o único açúcar disponível, 452
 quando a lactose está disponível, 452
- Opsina, 383f, 384
- Ópticas, propriedades, dos aminoácidos, 5-6, 5-6f
- Orgânicas, moléculas, como cofatores enzimáticos, 54
- Origem da replicação, 399, 400f
- Orlistat, 175
- Ornitina
 formação a partir da arginina, 262
 no ciclo da ureia, 255, 255f
 transporte da, 250
- Ornitina-transcarbamilase*, 254f
- Ornitina-transcarbamilase*, deficiência de, 257-258
- Orotato-fosforribosiltransferase*, 302
- Orotidilato-descarboxilase*, 302
- Orotidina 5'monofosfato (OMP), 302
- Osso(s)
 colágeno nos, 43
 vitamina D e, 388
- Osteoblastos, 45
- Osteocalcina, e vitamina K, 390
- Osteodistrofia renal, 389
- Osteogênese imperfeita, 49, 49f, 51f
 do tipo I (osteogênese imperfeita tardia), 49
 do tipo II (osteogênese imperfeita congênita), 49
- Osteomalácia, 388, 389f, 393f
- Ovários, secreção de hormônios pelos, 237, 240, 240f
- Oxalacetato (OAA)
 carboxilação do piruvato a, 105, 106f, 118-119, 119f
 produção de NADPH na, 183, 183f
 citosólico, descarboxilação do, 119f, 120
 formação do
 no catabolismo de aminoácidos, 251f
 na gliconeogênese, 118-120, 119f
 na síntese de citrato, 111-112, 111f
 no ciclo do ácido cítrico, 109-110, 109-110f, 111-112
 oxidação do malato a, 113
 redução a malato, 119, 119f
 transporte para o citosol, 119, 119f
- Oxidação
 da LDL, 234, 235f
 do ácido araquidônico, 213, 214f
- do gliceraldeído-3-fosfato, 101, 101f
 do isocitrato, 112
 do malato, 113
 do palmitoil-CoA, 192, 193f
 do succinato, 112f, 113
 dos ácidos graxos, **189-195**
- β -oxidação, 190-195
- Oxidante, agente, 75-76
- Oxidantes, fármacos, 153
- Oxidativas, reações, irreversíveis, **145-146**, 146f
- Óxido nítrico (NO)
 ações no endotélio vascular, 151
 como inibidor da agregação plaquetária, 151
 como neurotransmissor, 151, 151f
 e atividade bactericida de macrófagos, 151, 151f
 síntese de, 150-151, 151f
- Óxido nítrico (N_2O), 151
- Óxido-nítrico-sintase*, 150-151, 151f
 endotelial (eNOS), 151
 induzível (iNOS), 151
 neural (nNOS), 151
- Oxidoredutases*, 53f
- Oxiemoglobina, 27-28
- Oxigênio
 afinidade e ligação da hemoglobina ao, 26-33, 27-28f, 40f
 2,3-bisfosfoglicerato e, 30-32, 30-32f
 cooperativa, 28-30, 28-29f
 efetores alostéricos e, 26-33
 ligação do dióxido de carbono e, 31-32
 ligação do monóxido de carbono e, 31-33, 31-32f
 pCO₂ e, 28-29
 pH e, 29-30, 29-30f
 pO₂ e, 28-29, 28-29f, 29-30
 saturação na, 27-28
 afinidade e ligação da mioglobina pelo, 27-29
 como substrato da óxido nítrico-sintase, 151
 molecular
 intermediários reativos do, 148-149, 148f
 na síntese de hormônios esteroides, 237, 238f
 pressão parcial de. Veja pCO₂
- Oxipurinol, 301
- P**
- PABA, análogos do, 294f
- Palíndromos, 466
- Palmitato (ácido palmítico),
 alongação do, 187
 síntese do, 184-186, 185f
 relação com o metabolismo da glicose, 186, 187f
- Palmitoil-CoA, energia obtida pela oxidação de, 192, 193f
- Palmitoil-tioesterase*, 186
- Pâncreas, 307, 308f
- Pancreáticas, células das ilhotas α , secreção de glucagons pelas, 309, 313, 313f

- β
destruição, no diabetes melito tipo 1, 338, 338f
disfunção, no diabetes melito tipo 2, 342, 342f, 344, 344f
fosforilação da glicose em, 98-99
secreção de insulina por, 307-308, 308f, 310f
- Pancreáticas, enzimas
deficiência de, na fibrose cística, 174
degradação de ácidos nucleicos da dieta, 297-298, 299f
degradação de lipídeos pelas, 175-176
digestão de carboidratos pelas, 86-87, 87-88f
digestão de proteínas pelas, 248-249, 249f
regulação hormonal das, 176, 176f
- Pancreatite crônica, 248
- Pancroezimina. *Veja* Colecistocinina
- Pareamento de bases, 396f, 397, 397f
- Parenteral, alimentação, 369
- Pares redox, 75-76
- Parkinson, doença de, 286
- Partículas nucleares pequenas de ribonucleoproteína (snRNP), 427, 427f
- pCO₂
e afinidade do oxigênio pela hemoglobina, 28-29, 28-29f
e anemia falciforme, 36
- PCR. *Veja* Reação em cadeia da polimerase
- Pelagra, 380, 393f
- Penicilina, 62
- Pentassacarídeo central, nos oligossacarídeos, 166, 166f
- Pentose(s), nos nucleosídeos, 292, 292f
- Pentoses, 291, 292f
- Pentoses-fosfato, via das, 92f, **145-156**, 145f, 146f
e síntese de ácidos graxos, 186, 186f
mapa conceitual para, 155f
no estado absoritivo/alimentado, 323-324, 323-324f, 325-326, 325-326f
reações oxidativas irreversíveis na, **145-146**
reações reversíveis não oxidativas na, **147**
- PEP. *Veja* Fosfoenolpiruvato
- PEP-carboxicinase (PEPCK), 118, 120, 122, 457
- PEP-carboxicinase, no jejum, 329-330
- Pepsina
na digestão de proteínas, 248, 248f
pH ótimo para a, 58
- Pepsinogênio, 248
- Peptídeo C, na síntese da insulina, 308, 308f, 309f
- Peptídeo YY (PYY), 353
- Peptidil-transferase, 438-439, 440f
- Peristaltismo, 175
- Peroxidase, 213
- Peróxido de benzoíla, 385
- Peróxido de hidrogênio
conversão do superóxido em, 150
redução do, 148-149, 148f
- Peroxinitrito, 151
- Peroxissomo, β -oxidação dos ácidos graxos no, 195
- Peso. *Veja* Peso corporal; Obesidade
- Peso corporal. *Veja também* Obesidade
efeitos de redução e aumento do consumo de alimento sobre o, 351-352, 351-352f
ponto ajustado para o, 351-352
ponto fixo para o, 351-352
redução do, **354-355**
regulação do, **351-352**
- PEST, sequência, 247
- pH
e afinidade do oxigênio pela hemoglobina, 28-31, 29-30f
e anemia falciforme, 36
e desnaturação enzimática, 57
e velocidade da reação, 57-58, 58f
ótimo, para enzimas, 58, 58f
prótons reduzindo o, fonte de, 29-30, 29-30f
- Pigmentação, doenças da
na alcaptonúria, 274
na fenilcetonúria, 271
- Pigmentação da cartilagem, na alcaptonúria, 274
- Pigmentos biliares, 282. *Veja também* Bilirrubina
- Pineal, glândula, 287
- Piranoze, 84-85
- Piridoxal, 377f, 378
- Piridoxal fosfato, 251, 251f, 377f
na degradação do glicogênio, 128
na síntese de esfingomielinas, 206
na síntese de histamina, 287
na transaminação de aminoácidos, 251, 251f
- Piridoxamina, 377f, 378
- Piridoxina, 273, 377f, 378, **378**. *Veja também* Vitamina B₆
- Pirimídico, fontes dos átomos para o anel, 302, 302f
- Pirimidina(s)
amônia a partir de, 257
bases, no DNA e no RNA, 291-292, 291f, 305f
degradação de, **304**
estrutura das, 291-292, 291f, 292f
síntese de, **302-303**, 303f
síntese de novo das, 291
via de salvação para as, 304
- Pirofosfatase, 126, 296, 437
- Pirofosfato (PP_i), 404
- Piruvato, 96-97
aminoácidos que produzem o, 263-264, 263-264f
carboxilação a oxalacetato, 105, 118-119, 119f
produção de NADPH na, 186, 186f
conversão da glicose a (glicólise aeróbia), 96-102, 96-97f
conversão do fosfoenolpiruvato a, 101-102
descarboxilação oxidativa do, 105, 106f, 109-111, 110-111f
tiamina e, 378f, 379, 379f
destinos alternativos do, **105**
formação do
no catabolismo dos aminoácidos, 261, 263-264, 263-264f
produção de ATP, 101-103
no ciclo do ácido cítrico, 109-111
redução a etanol, 105, 106f
redução a lactato (glicólise anaeróbia), 103-104, 103f
síntese de glicose a partir do (gliconeogênese), 118-119, 119f
- Piruvato-carboxilase, 105, 106f, 118, 120, 122, 123
ativação alostérica da, 119
no estado absoritivo/alimentado, 323-324
no jejum, 330
- Piruvato-carboxilase/PEP-carboxicinase, 121
- Piruvato-cinase, 98-99, 101-102, 118
ativação da, 101-102
deficiência de, 101-103
desfosforilação da, 101-102
formas mutantes da, 103
glucagon e, 121, 122f
insulina e, 313
modulação covalente da, 101-102
no estado absoritivo/alimentado, 323-324
regulação hormonal da, 105
- Piruvato-descarboxilase, 147
- Piruvato-desidrogenase (PDH), 105, 110-111, 110-111f, 119
deficiência de, 111
inibição pela acetil-CoA, 122
irreversibilidade da ação, 118
no envenenamento por arsênico, 101, 111
no estado absoritivo/alimentado, 323-324
no jejum, 196, 330
- Piruvato-desidrogenase, complexo da, 105, 106f, 109-111, 110-111f
coenzimas do, 110-111
deficiência, 111
enzimas componentes do, 110-111
mecanismo de ação, 110-111, 110-111f
no ciclo do ácido cítrico, 109-111
regulação do, 110-111, 111f
- Piruvato-desidrogenase-cinase, 110-111, 323-324
- Piruvato-desidrogenase-cinase independente de AMPc, 110-111
- Piruvato-desidrogenase-fosfatase, 110-111
- Placas amiloides, 21, 21f
- Placenta, secreção hormonal pela, 237
- Plaquetária, homeostase, prostaglandinas e, 214, 216f
- Plaquetas, interação da protrombina com, 389
- Plasma, medições no, 65
- Plasmalogênios, 202, 202f
- Plasmídeos, 398
procarióticos, 467, 467f, 468f
- Plasmídeos procarióticos, 467, 467f
- Plasminogênio, apo(a) e, 237
- Plasmodium falciparum, 37
- Pneumonia, nutrição e, 361f
- pO₂ e afinidade/ligação
à hemoglobina, 28-29, 28-29f
à mioglobina, 28-29, 28-29f
- Pol ϵ , 406-407, 406-407f
- Pol 5'→3' polimerase, 406-407
- Pol α , 406-407, 406-407f
- Pol β , 406-407, 406-407f
- Pol δ , 406-407, 406-407f
- Pol γ , 406-407, 406-407f
- Polaridade da ligação peptídica, 14, 14f
- Poliadenilação, 456-457
- Poliadenilato-polimerase, 426
- Policistrônico, RNAm, 437-438, 450, 452
- Polidipsia, no diabetes melito, 338, 341
- Polifagia, no diabetes melito, 338, 341
- Poli-insaturados, ácidos graxos, 188, 364f
- 5'→3' Polimerase, na edição do DNA, 404-405, 404f
- Polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição (RFLP), **472-477**, **479**
de mudanças de uma única base no DNA, 474, 475
de repetições em tandem, 475, 476f
ligação forte no, 476-477
na anemia falciforme, 476-477, 478f
na fenilcetonúria, 476-477, 479, 479f
para o diagnóstico pré-natal, 476-477, 479, 476-477f
para traçar cromossomos de pais para filhos, 475-476
variações no DNA resultando em, 475, 475f, 476f
- Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), 475
- Polimorfismo(s), 475, 475f. *Veja também* Polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição
curtas repetições em tandem, 482-483
de comprimento do fragmento de restrição, **472-477**, **479**
de nucleotídeo único, 475
na anemia falciforme, 476-477, 478f
na fenilcetonúria, 476-477, 479
no diagnóstico pré-natal, 476-477, 479

- para traçar cromossomos de pais para filhos, 475-476
- repetições em *tandem*, 475, 476f
- Polimorfismos de pequenas repetições em *tandem* (STR), 482-483
- Polinucleossomo, 410-411
- Poliol, 139
- Polipeptídeo inibitório gástrico (GIP), 310
- Polipeptídeo(s), 14
- α -hélice dos, 16-17, 16f
 - clivagem em fragmentos menores, 15, 16f
 - composição de aminoácidos dos, determinação da, 14-15, 15f, 16f
 - curvaturas β , 17
 - domínios, 19
 - elongação do, 438-442, 438-439f
 - estrutura primária dos, 14-16
 - estrutura secundária dos, 16-18
 - não repetitiva, 18
 - estrutura terciária, 18-20
 - interações que estabilizam a, 19
 - folhas β , 17, 17f
 - modificações pós-traducionais dos, 442-444, 442-444f
 - resíduos de aminoácidos dos, 14
 - sequenciamento de, a partir da extremidade N, 15, 15f
 - tradução do RNAm em, 431-438
- Polissacarídeos, 83-86
- da dieta, 365
 - digestão de, 86-87
- Polissomos, 442, 442f
- Poliubiquitina, cadeia de, 247
- Poliúria, no diabetes melito, 338, 341
- Pontas retas, de fragmentos de DNA, 466, 466f
- Pontes salinas, 30-31
- Ponto ajustado, para o peso corporal, 351-352
- Ponto fixo, para o peso corporal, 351-352
- Porfíria cutânea tardia, 280, 280f, 281f
- Porfíria hepática, aguda, 280, 281f
- Porfíria intermitente aguda, 280, 281f
- Porfíria variegata, 280, 281f
- Porfíria(s), 279-282
- aguda intermitente, 280, 281f
 - coproporfíria hereditária, 280, 281f
 - crônica, 280, 281f
 - eritropoiética, 280, 281f
 - congenita, 280, 281f
 - hepática, 280
 - aguda, 280
 - manifestações clínicas da, 280
 - tratamento da, 282
 - variegata, 280, 281f
- Porfírias eritropoiéticas, 280, 281f
- Porfíria(s)
- cadeias laterais das, 277
 - distribuição das, 278-279, 278-279f
 - degradação da, 282-284, 282-284f
 - estrutura, 277-279, 278-279f
 - metabolismo da, **277-279**
 - síntese das, 287-279, 278-281f
 - defeitos na, 279-282, 280f
 - inibição pelo produto final, hemina, 278-279
 - passo limitante da velocidade, 278-279
 - tipo I, 278-279, 278-279f
 - tipo II, 278-279, 278-279f
- Porfirinogênios, 278-279
- Porfobilinogênio, 278-279, 278-279f
- Pós-traducional, modificação de cadeias polipeptídicas, 442-444, 442-443f
- do colágeno, 45
- Pós-transcricional, modificação, **424-427**
- do RNA ribossômico, 424-425, 424f
 - do RNA transportador, 425, 425f
- Potencial de redução padrão (E°), 77, 77f
- relação com a variação de energia livre, 77
- Poupança de proteínas, 369
- Pravastatina, 61, 224
- Prednisona, 301
- Pregnenolona, 237f, 238
- Prenilação, 220-221
- Pré-pró-glucagon, 313
- Pré-pró-insulina, 308, 308f, 309f
- Pré-ribossomal, RNA, 424
- Pressão parcial de dióxido de carbono. *Veja* pCO_2
- Pressão parcial de oxigênio. *Veja* pO_2
- Pribnow*, caixa, 420, 420f
- Primaquina, 153
- Primase*, 402-403, 402f
- Primeira ordem, reações de, 59, 59f
- Primossomo, 403
- Prion, proteína (PrP), 22, 22f
- Probenecide, 301
- Pró-cadeias α , na síntese de colágeno, 45, 46f
- Procariótica, transcrição gênica, **419-421**
- alongamento na, 420-421, 420f
 - antibióticos direcionados à, 421, 422f
 - iniciação, 419-420, 420f
 - regulação, 449f, **450-454**
 - terminação, 421, 421f
 - dependente de $r\sigma$ (p), 421
 - independente de $r\sigma$ (p), 421, 421f
 - volta em forma de grampo na, 421, 421f
- Procariótico, DNA, 395
- alongamento da cadeia no, 403-405, 403f
 - edição, 404-405, 404f
 - fita contínua, 402, 403f
 - fita descontínua, 402, 403f
 - forquilha de replicação, 399-400, 400f
 - proteínas necessárias para a separação da dupla-hélice, 399-400, 400f
- replicação do, **399-400**
- bidirecional, 399, 400f
 - complexo pré-iniciador para a, 399, 402
 - contínua, 402
 - descontínua, 402, 402f
 - iniciador de RNA para, 402-403, 402f
 - excisão e substituição do, 405, 405-406f
 - origem da, 399, 400f
 - problema da supertorção, 400-401, 401f
 - processividade na, 403
 - semiconservativa, 399, 399f
 - sentido da, 402
- Processos favoráveis, 72f, 73
- Progesterona, 237f, 420f
- Progestinas, 237
- Pró-colágeno, 46f, 47-48
- clivagem extracelular do, 46-48f, 47-48
- Pró-colágeno-peptidases* C, 47-48
- Pró-colágeno-peptidases*, 47-48, 47-48f
- deficiência de, e síndrome de Ehlers-Danlos, 48
- N-Pró-colágeno-peptidases*, 47-48
- Pró-insulina, 308, 308f, 309f
- Projeto genoma humano, 465-466, 469-470
- Prolactina, 142
- Prolil-hidroxilase*, hidroxilação do colágeno pela, 45f, 47-48
- Prolina, 4-5, 4-5f, 262
- cadeia lateral, 2f, 4-5, 4-5f
 - catabolismo da, 262
 - degradação de proteínas contendo, 247
 - em curvaturas β , 17
 - na elastina, 49
 - no colágeno, 45
 - hidroxilação de, 45, 45f, 46f, 47-48
 - ruptura da α -hélice por, 16-17
 - síntese, 268
- Promotor, ativação do, elementos de resposta a hormônios e, 240, 241f
- Promotora, região, 419-420, 420f
- Promotores, 422-423, 423f
- Propeptídeos, na biossíntese do colágeno, 47-48, 47-48f
- Propionato, 277
- Propionil-CoA, 265-266
- catabolismo de aminoácidos formando, 265-266, 266-267f
 - conversão a succinil-CoA, 265-266
 - metabolismo, 194-195, 195f
- Propionil-CoA-carboxilase*, 194
- Prostaciclina, 213f
- Prostaglandina(s), **213-214**
- ácidos graxos como precursores de, 181
 - estrutura, 213f
 - função das, 215f
 - gorduras poli-insaturadas n-6 e n-3 e, 363
 - mapa conceitual para as, 217f
 - na homeostase de plaquetas, 214
 - PGE₂, 213f, 215f
 - PGF₂ α , 213f, 215f
 - PGG₂, 214f
 - PGH₂, síntese de, 213, 214f
 - PGI₂, 213, 213f, 214, 215f
 - síntese, 213-214, 215f
 - inibição da, 214
 - substratos para a, 202
- Prostaglandina-endoperoxido-sintase (PGH-sintase)*, 213
- Prostéticos, grupos, 54
- Proteases*, 50
- Proteassomos, 246-247, 443-444
- Proteína amiloide, 21
- Proteína animal, 367, 367f
- Proteína ativadora de genes de catabolismo (CAP), 452
- Proteína C, vitamina K, 390
- Proteína central dos glicosaminoglicanos, 158, 160f, 161
- Proteína de ligação ao elemento de resposta a esteróis (PLERE), 222-223, 223f, 232
- Proteína de ligação ao elemento de resposta a esteróis, proteína ativadora da clivagem da, 223
- Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc (CREB), 456-457
- Proteína DnaA, 399
- Proteína regulada por AMPc (CRP), 452
- Proteína reguladora da condutância transmembrana da fibrose cística (PRTFC), 174, 433-434, 482-483
- Proteína regulatória esteroideogênica aguda, 238
- Proteína transferidora de ésteres de colesterol (PTEC), 235
- Proteína vegetal, 367, 367f
- Proteína(s)
- α -hélice das, 16-17, 16f
 - análise de, 483-485, 484-485f
 - carboxilação, 443-444, 443-444f
 - clivagem, 442-443
 - conformação nativa, 23f
 - curvaturas β , 17
 - de ligação ao DNA de fita simples, 400, 400f
 - degradação de, 246-247, 443-444
 - mecanismo ubiquitina-proteassomo para, 246-247, 247f
 - sinais químicos para, 247
 - desacoplamento, 79
 - desfosforilação, 95-96
 - desnaturação, 20
 - agentes para, 20
 - reversibilidade da, 20
 - DnaA, 399
 - DNA-helicases, 400, 400f
 - dobramento das, 20, 20f
 - chaperonas no, 20
 - erros ou mutações no, 21
 - domínios, 19
 - estrutura, **13-24**
 - dobramento inadequado, **21-22**
 - em solução aquosa, 18
 - hierarquia da, 13, 13f, 23f
 - mapa conceitual para, 23f

- primária, **13-16**, 13-15*f*, 23*f*
 quaternária, 13*f*, **20-21**, 23*f*
 secundária, 13*f*, **16-18**, 16*f*, 17*f*, 23*f*
 não repetitiva, 18
 supersecundária (motivos), 18, 18*f*
 terciária, 13*f*, **18-20**, 18-20*f*, 23*f*
 interações que estabilizam a, 19
 farnesiladas, 443-444, 443-444*f*
 fibrosas, **43-52**, 51*f*. *Veja também* Colágeno; Elastina
 resumo das, 52
 folhas β , 17, 17*f*
 fosforilação das, 442-443*f*, 443-444
 funções, 1
 γ -carboxiglutamato nas, 389-390
 glicosilação, 442-443*f*, 443-444
 globulares, 18, 25-41-42. *Veja também* Hemoglobina; Mioglobina
 hidroxilação, 443-444, 443-444*f*
 ligações peptídicas nas, 13-14, 14*f*
 metabolismo das
 glucagon e, 314
 no jejum, 332, 332*f*
 modificação covalente, 443-444
 modificações pós-traducionais, **442-444**, 442-444*f*
 monoméricas, 20
 na dieta, 246*f*, 357-358, 357-358*f*, **367-369**
 com diferentes aminoácidos limitantes, 368, 368*f*
 conteúdo energético, 359-360, 359-360*f*
 de fontes vegetais, 367*f*, 368
 de origem animal, 367, 367*f*
 digestão de, **247-249**
 anormalidades na, 248-249
 pelas secreções gástricas, 248, 248*f*
 por enzimas pancreáticas, 248-249, 249*f*
 e balanço de nitrogênio, 368
 efeito poupador dos carboidratos e, 369
 ingestão deficiente de, 369, 369*f*
 ingestão excessiva, 368
 necessidades, 368-369
 qualidade da, 367-368, 367*f*, 368*f*
 variações aceitáveis na distribuição de, 360, 360*f*
 para a separação das fitas, 399-400, 400*f*
 resíduos de aminoácidos apolares, localização nas, 2, 4-5, 4-5*f*
 ribossomais, 436
 regulatórias, 453-454, 453-454*f*
 sequência de aminoácidos nas, 14-16
 análise de DNA da, 15-16
 determinação da, 14-15, 15*f*
 síntese de, 395, **431-448**, 440-441*f*. *Veja também* Expressão gênica
 alongamento, 438-442, 438-440*f*
 componentes necessários, **433-437**
 inibidores da, 442
 iniciação da, 437-439, 440*f*
 insulina e, 311
 mapa conceitual para a, 446*f*
 no estado absorvivo/alimentado, 323-324*f*, 324-327, 326-327*f*
 passos na, **437-443**
 regulação da, 442-443
 terminação da, 441*f*, 442
Proteína(s)-cinase(s)
 dependente de AMPc, 95-96, 95-96*f*
 glucagon e, 314
 na degradação do glicogênio, 132, 133, 133*f*
 na regulação da *piruvato-cinase*, 101-102, 101-102*f*
 e complexo da *piruvato-desidrogenase*, 111*f*
 na fosforilação, 63, 63*f*
 piruvato como inibidor da, 111
Proteína(s)-fosfatase(s), 95-96
Proteína-cinase A, 95-96, 133-134
Proteína-cinase A dependente de AMPc, 133-134
Proteína-cinase C, 95-96, 133-134, 208
 na sinalização intracelular, 205*f*, 206
Proteína-cinase dependente de 3'-5'-AMP cíclico, 190
Proteína-cinase dependente de AMPc
 glucagon e, 122, 314
 na degradação de glicogênio, 132
 na regulação da *piruvato-cinase*, 101-102
Proteína-cinase G, 151
Proteína-fosfatase 1, 132-134
Proteína-oligosacarídeo-transferase, 167
 Proteínas de choque térmico, 20
 Proteínas de ligação, nos agregados de proteoglicanos, 158, 160*f*
 Proteínas de ligação a DNA de fita simples (SSB), 400, 400*f*
 Proteínas do tecido conjuntivo, 49. *Veja também* Colágeno; Elastina
 Proteínas fibrosas, **43-52**. *Veja também* Colágeno; Elastina
 mapa conceitual para as, 51*f*
 resumo das, 52
 Proteínas G, 94*f*, 95-96
 Proteínas G, receptor de membrana acoplado a, 94*f*, 95-96, 132, 213
 Proteínas globulares, **25-42**. *Veja também* Hemoglobina; Mioglobina
 em solução aquosa, 18
 estrutura terciária das, **18-20**
 Proteínas Mut, 410-411
 Proteínas reguladoras dependentes de trifosfato de guanossina, 95-96, 95-96*f*
 Proteínas reguladores de ferro (PRF), 457-459, 457-458*f*
 Proteoglicano(s), 157-158
 cartilagem, 158, 160*f*
 estrutura dos, 158, 160*f*
 região de ligação com a proteína, 158, 160*f*
 vs. glicoproteínas, 165
 Proteoglicanos, agregados, 158, 160*f*
 Proteoglicanos, monômeros, 158
 estrutura, 158, 160*f*
 modelo da escova para frascos, 158, 160*f*
 Proteolíticas, enzimas, 248, 248*f*
 Proteômica, 483-485, 484-485*f*
 Prótons, transporte de, acoplado com transporte de elétrons, 77-78, 78*f*
 Protoporfiria eritropoiética, 280, 281*f*
 Protoporfirina, 62, 277
 Protoporfirina IX, 279*f*
Protoporfirinogênio-oxidase, 281*f*
 Protrombina, 389
PRPP-sintetase, 293, 299
 Prurido,
 na porfiria, 280
 tratamento de, 385
PS-descarboxilase, 203-204
 Pseudogenes, 34
 Pseudouridina, 425*f*
 Psoríase, ácido retinoico para a, 385
 Pulmões, α_1 -antitripsina nos, 50, 50*f*
 Púrico, fonte dos átomos para o anel, 292, 293*f*
 Purina(s)
 amônia a partir de, 257
 bases
 conversão a nucleotídeos, 296, 296*f*
 no DNA e no RNA, 291-292, 291*f*, 305*f*
 síntese de novo de, 291
Purina-nucleosídeo-fosforilase, 299
 deficiência de, 300
 Puromicina, 440*f*
- Q**
- Quantidade diária recomendada (QDR), 357-358, 358-359*f*
 para a vitamina D, 388
 para a vitamina E, 391
 para carboidratos, 367
 para proteínas, 368
 Quenodesoxicólico, ácido, 224, 224*f*, 225*f*
 Quepe 5', no RNA mensageiro, 425-426, 426*f*, 456-457
 Queratan sulfatos, 158, 159*f*, 162-163
 Queratinas, 16, 382
 Quilo, 178
 Quilomicra, 177*f*, 178, 227
 composição de, 232*f*
 formação de, 228
 metabolismo dos, 228-231, 229*f*
 no diabetes melito tipo 1, 339-340, 339*f*
 no diabetes melito tipo 2, 344
 partículas nascentes, modificações das, 228
 tamanho e densidade das, 227, 227*f*
 Quimiosmótica, hipótese, 77-79
 Quimo, 178
 Quimotripsina, 56, 249*f*
 Quinolonas, 401
 Quiralidade, nos aminoácidos, 5-6, 5-6*f*
- R**
- R, grupo. *Veja* Cadeias laterais, dos aminoácidos
 Racemases, 84-85
 Radicais livres, derivados do oxigênio, 150
 Radicais superóxido, 151
 Raquitismo, 393*f*
 nutricional, 388
 renal, 389
 Raquitismo nutricional, 388
 Raquitismo renal, 389
 Reação de troca de bases, na síntese da fosfatidilserina, 203-204*f*, 205
 Reação em cadeia da polimerase (PCR), **477, 479-483**
 aplicações, 481-483
 construção do iniciador na, 479-481, 480-481*f*
 na fibrose cística, 482-483, 482-483*f*
 para análise forense de amostras de DNA, 481-483
 para comparação de um gene normal clonado com um gene mutante não clonado, 481-482
 para detecção de sequências pouco abundantes de ácidos nucleicos, 481-482
 passos na, 479-482
 vantagens, 382
 Reações de acoplamento
 energia, 72-73, 72*f*
 intermediário comum em, 72-73
 Reações de ordem zero, 59, 59*f*
 Reações endoergônicas, 69-70
 Reações exoergônicas, 69-70
 Reações no sentido direto, variação da energia livre em, 69-70
 Receptor de insulina, proteínas substrato do (SRI), 311*f*, 312
 Receptor removedor classe A (RR-A), 234
 Receptor removedor classe B do tipo 1 (RR-B1), 236
 Receptores "removedores" em macrófagos, captação de LDL quimicamente modificada por, 234
 Receptores na superfície celular, 455-457, 455-456*f*
 Receptores nucleares, superfamília de, 455-456
 Recombinante, DNA, 471-472
 unindo pontas adesivas, 467*f*
 Redundância, 433
 Redutores, agentes, 75-76
 Regulação negativa da expressão gênica, 452-453
 Regulação por pró-ação, 101-102

- Regulação por subssensibilização, 313
- Regulação positiva, da expressão gênica, 452-453
- RelA*, 453-454
- Remanescentes de quilomicra destino, 178
- endocitose de, 230-231
- formação, 230-231
- Renaturação (reanelamento), 398
- Renina*, 239
- Renovação de proteínas, 246-247, 246f, 259f
- velocidade de, 246
- Reparo, sistema de, direcionado pela fita de DNA, 410-411, 410-411f
- Reparo de dano ao DNA direcionado por metilação, 410-411, 410-411f
- Reparo de extremidades não homólogas, do DNA, 412-413
- Reparo por excisão de bases, 411-412, 412-413f
- Reparo por excisão de nucleotídeos, 410-411, 410-411f
- Reparo por recombinação homóloga, 412-413
- Repetições em *tandem*, número variável de (VNTR), 475, 476f
- Replicação bidirecional do DNA, 399, 400f
- Replicação semiconservativa, do DNA, 399, 399f
- Resistência a antibióticos, plasmídeos e, 467, 467f, 468f
- Resistência à insulina
- causas da, 343
- no diabetes melito tipo 2, 342-343, 343f
- obesidade e, 342
- Respiratório, controle, da produção de energia, 78
- Resposta estridente à ausência de aminoácidos, 453-454, 453-454f
- Restrição calórica, para a perda de peso, 354
- Retardo mental, na fenilcetonúria, 271, 271f
- Retículo endoplasmático
- liso, sistema do citocromo-P450-monoxigenase do, 149
- rugoso
- precursores do colágeno no, 45, 46f
- ribossomos no, 436-437
- síntese de apolipoproteínas no, 228
- síntese de glicoproteínas no, 166, 167, 167f, 168f
- síntese de colesterol no, 220
- Reticuloendotelial (RE), sistema, degradação do heme no, 282, 282f
- Retinal, 382, 382f, 392f
- 11-cis-Retinal, 382f, 383f, 384
- Retinoides, 381-384
- estrutura dos, 382, 382f
- função dos, 384
- indicações clínicas para, 384-385
- mecanismo de ação, 382, 383-385f
- toxicidade dos, 385-386, 393f
- Retinol, 382, 382f, 392f
- como suplemento na dieta, 384, 391
- oxidação a ácido retinoico, 384f
- Retinol, proteína ligadora de (PLR), 382
- celular, 382
- plasmática, 382, 384f
- Retinopatia, 140
- Retinopatia diabética, 344f, 345, 346f
- metabolismo do sorbitol e, 140
- Retroalimentação, inibição por, 63, 63f
- Retrotranspósons, 407-408, 460-461
- Retrovírus, 458-459, 468
- RFLP. *Veja* Polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição
- Riboflavina, 54, **380-381**, 392-393f
- deficiência de, 381, 393f
- formas ativas da, 380-381, 380f, 392f
- função da, 381, 392f
- ingestão dietética de referência para a, 358-359f
- Ribonucleases*, 397, 424
- Ribonucleosídeo 5'-difosfato (NDP), 293f
- Ribonucleosídeo 5'-monofosfato (NMP), 293f
- Ribonucleosídeos 5'-trifosfato (NTP), 293f
- Ribonucleosídeos fosfato, 291. *Veja também* Nucleotídeo(s)
- Ribonucleotídeo(s)
- como produto final da síntese de purinas, 293
- conversão em desoxirribonucleotídeos, 296-298, 296-297f
- Ribonucleotídeo-redutase*, 296-297, 300f
- especificidade ao substrato, 297-298
- reduzida, regeneração da, 296-297
- regulação da, 296-298, 297-298f
- sítio de atividade da, 296-298, 297-298f
- Ribose, 292, 292f
- Ribose 5-fosfato, 145
- formação de, na via das pentoses-fosfato, 147, 147f
- Ribossomais, proteínas, 436
- regulatórias, 453-454, 453-454f
- Ribossomal, RNA (RNAr), 418, 418f
- modificação pós-transcricional do, 424-425, 424f
- resposta estridente e, 453-454
- Ribossomos, 436-437
- eucarióticos, 436-437, 436f
- localização celular dos, 436-437
- procarióticos, 436-437, 436f
- Ribozimas, 54, 433-434, 438-439
- Ribulose 5-fosfato, 145, 147
- formação de, 146, 146f
- Ricina, 442
- Rifampicina, 421, 422f
- Rim(s)
- gliconeogênese no, 117
- metabolismo da frutose no, 138
- no jejum de longa duração, **332**
- sistema do citocromo-P450-monoxigenase no, 149
- RNA, 395, **417-430**
- alongamento do, 420-421, 420f
- análise do, 484-485f
- bases do
- incomuns, 291-292, 292f, 418
- pirimídicas, 291, 291f, 305f
- púricas, 291, 291f, 305f
- clivagem alcalina do, 396
- estrutura do, **417-418**, 429f
- heterogêneo nuclear, 425
- informação do DNA para o, 395, 395f
- mapa conceitual para o, 429f
- mensageiro (RNAm), 417, 418, 419f
- codificação para a síntese proteica, 433-434
- códons do, 431-432, 432f
- mutações em, 432f, 433-434
- reconhecimento pelo RNAt, 434-435
- edição, 456-458, 456-457f
- estabilidade do, 457-460, 457-460f
- eucariótico, 418, 419f
- modificação pós-transcricional do, 425-427, 426f, 453-454, 456-460
- éxons de, corte-junção dos, 426-427, 427f
- expansão de repetições trinucleotídicas, 433, 433f
- íntrons do, 426
- remoção dos, 426-427, 427f
- monocistrônico, 437-438
- mutação com alteração do módulo de leitura do, 433-434, 433-434f
- mutação com perda de sentido, 432f, 433
- mutação sem sentido, 432f, 433
- mutação silenciosa, 432f, 433
- mutações no sítio de corte-junção, 433-434
- não codificante (RNAm), 417
- níveis de, determinação dos, 482-484, 483-484f
- padrões alternativos de corte-junção dos, 427, 428f
- policistrônico, 437-438, 450, 452
- sequência de nucleotídeos do, alteração da, 432f, 433-434
- tradução do, 431-432f, 432-443, 440-441f, 459-460, 459-460f
- componentes necessários para a, **433-437**
- passos da, 437-444, 440-441f
- regulação da, 442-443
- transcrição do, 450
- modificações pós-transcricionais do, **424-427**
- nuclear pequeno (RNAsn), 418, 426-427, 427f
- pré-ribossomal, 424
- ribossomal (RNAr), 417, 418, 418f
- modificação pós-transcricional do, 424-425, 424f
- na regulação da expressão gênica, 453-454, 453-454f
- síntese do (transcrição), 429f. *Veja também* Expressão gênica
- a partir de óperons bacterianos, 450-453, 451f
- alongamento do, 420-421, 420f
- como alvo de antibióticos, 421, 422f
- eucariótico, **420-422, 453-461**
- iniciação da, 419-420, 420f
- palindromo de DNA e, 466, 466f
- procariótica, **419-421, 450-454**
- regulação negativa da, 452-453
- regulação positiva da, 452-453
- terminação da, 421, 421f
- transcrito primário na volta em forma de grampo e, 421, 421f, 452-453
- transportador (RNAt), 417, 418, 418f
- anticódon do, 434-435
- bases incomuns do, 417f, 418, 425
- como moléculas de adaptação, 434-435
- iniciador, 437-438, 440f
- ligação antiparalela com o códon, 437, 437f
- ligação de aminoácidos a enzimas necessárias para, 434-435, 434-435f
- sítio para, 433-434f, 434-435
- modificação pós-transcricional do, 425, 425f
- na síntese proteica, 434-435
- pareamento de bases intracadeia no, 418, 418f
- reconhecimento do códon pelo, 434-435
- síntese de, 425
- sítios ribossomais de ligação ao, 436
- RNA, silenciamento do, 458-459
- RNA de interferência (RNAi), 458-459, 458-459f
- terapia utilizando, 458-460
- RNA de interferência, pequeno (RNAsi), 458-459
- RNA heterogêneo nuclear, 425
- RNA iniciador, 402-403, 402f
- remoção de, 405, 405-406f
- RNA não codificante (RNAm), 417
- RNAdf, RNA de interferência e, 458-459

RNAm eucariótico, 425-427, 426f
RNA-polimerase, 417
 como alvo de antibióticos, 421, 422f
 desenrolamento do DNA pela, 420-421, 420f
 enzima central, 419, 419f
 fator ρ (ρ)
 para reconhecer sequências nucleotídicas de consenso, 419-420, 420f
 terminação da transcrição dependente de, 421, 421f
 holoenzima (fator sigma, unidade sigma), 419, 419f
 mitocondrial, 424
 na transcrição em eucariotos, 422-424, 423f
 na transcrição procariótica, 419-421, 419f, 450-452, 451f
 nuclear, de células eucarióticas, 422-424, 423f
5'→3' RNA-polimerase
 na transcrição, 419-421, 420f
RNA-polimerase I, 422
RNA-polimerase II, 422-425
 inibidores para a, 424
RNA-polimerase III, 424
RNase H, 405-406
 Rô (ρ), fator, 419
 Rodopsina, 384
 Rosuvastatina, 224
 Rotenona, 75-76f
 Rótulos de conteúdos nutricionais, 364
 RT-PCR (*transcriptase reversa*-PCR), 482-483

S

Sacarase, 87-88
 Sacarose, 85-86, 365, 367
 S-Adenosil-homocisteína, 264-265
 S-Adenosil-metionina (SAM), 203-204, 263-264, 425-426
 como carregador de unidades de um carbono, 263-264, 267-268
 grupo metila ativado da, 264-265
 hidrólise de, 264-266, 264-265f
 metilação de, 459-460, 460-461f
 síntese de, 264-265, 264-265f
 Sais biliares, 175, **224-227**
 aumento da natureza anfipática dos, 225
 circulação enteroepática dos, 225-226, 226f
 colesterol como precursor dos, 225
 deficiência de, 226-227, 226f
 estrutura dos, 175, 175f
 flora intestinal, ação sobre os, 225
 secundários, 225
 síntese dos, 225, 225f
 Salicilatos, 282
 Sanger, método didesoxi de, 469-470, 470-471f
 Saúde, obesidade e, 349-350, 354
Scrapie, 22
 Secretina, 176, 248

Segundos mensageiros, sistemas de, 94
 Selênio, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
 Senescência celular, 407-408, 407-408f
 Sequência -35, 420, 420f
 Sequência -CCA, 425, 425f
 Sequenciamento do DNA. *Veja também* Análise do DNA
 para a estrutura primária de proteínas, 15-16
 Sequências consenso
 para a replicação do DNA, 399
 para a transcrição do RNA eucariótico, 423, 423f
 procariótico, 420, 420f
 Sequências flanqueadoras, 480-481
 Sequências nucleotídicas, 396, 396f
 consequências de alteração das, 432f, 433-434
 mapeamento de, 449. *Veja também* Análise de DNA
 Sequências reguladoras, na transcrição, **449-450**
 Sequestradores de ácidos biliares, 225
 Serina, 4-5, 19f
 cadeias laterais da, 3f, 4-5
 catabolismo da, 263-264, 263-264f
 degradação de proteínas contendo, 247
 interconversão com a glicina, 263-264, 263-264f, 268
 na síntese de cisteína, 265-266, 268
 na síntese de esfingomielina, 206, 207f
 nos fosfolípidos, 201f, 202
 nos proteoglicanos, 158
 síntese de, 268
Serina-desidratase, 263-264
Serina-hidroximetiltransferase, 268
 Serotonina
 funções da, 287
 inibidores da *monoamino-oxidase* e, 287
 síntese de, 270f, 287, 287f
 Shine-Dalgarno, sequência de, 437-438f, 438-439, 453-454
 Silenciadores, 424
 Símbolos, para os aminoácidos, 5-6, 5-6f
 Simetria de rotação dupla, 466, 466f
 Simpáticos, gânglios, *tirosina-hidroxilase* nos, 286
 Sinal de localização nuclear, 442-443
 Sinalização endócrina, 94f
 Sinalização química, regulação metabólica via, 94-97, 95-96f
 Sináptica, sinalização, 94f
 Sindecano, 158
 Síndrome da angústia respiratória, 203-204, 236
 Síndrome da morte súbita em bebês, 193
 Síndrome de Dubin-Johnson, 283

Síndrome de Gilbert, 282
 Síndrome de Hunter, 163, 164f
 Síndrome de Hurler, 164f, 471-472
 Síndrome de Leigh, 111
 Síndrome de Lesch-Nyhan, 296-297, 296-297f
 Síndrome de Lynch, 410-411
 Síndrome de Marfan, 49
 Síndrome de McArdle, 129f
 Síndrome de resistência à insulina, 353
 Síndrome de Reyes, 193
 Síndrome de Sanfilippo, 164f
 Síndrome de Sly, 164f
 Síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS), 220-221
 Síndrome de Wernicke-Korsakoff, 110-111, 379, 393f
 Síndrome de Zellweger, 195
 Síndrome do X frágil, 433, 433f
 Síndrome dos ossos frágeis. *Veja* Osteogênese imperfeita
 Síndrome metabólica, 353
 Síndromes de imunodeficiência. *Veja também* Vírus da imunodeficiência humana (HIV); Doença da imunodeficiência combinada grave
 reparo de defeitos no DNA e, 412-413
 Sinvastatina, 61, 224, 224f
 Sistema nervoso central. *Veja também* Encéfalo
 tirosina-hidroxilase no, 286
 Sistemas glicorreguladores, 315f, 316
 Sítio A, no ribossomo, 436
 Sítio de ramificação, 427
 Sítio E, no ribossomo, 436
 Sítio P, no ribossomo, 436
 Sítios ativos, 54, 54f, 56, 57
 Sítios de restrição, 466
 β -Sitosterol, 220
 Sobrepeso, classificação de, 349-350
 Soja, proteína de, e doença cardíaca coronariana, 364
 Sondas biotiniladas, 471-472
 Sondas de DNA, 465-466, 465-466f, **469-472**
 anticorpos, 471-472
 biotiniladas, 471-472
 hibridização a fragmento de DNA, 469-470
 oligonucleotídeos, 470-472, 471-472f
 na anemia falciforme, 471-472, 471-473f
 Sondas de DNA, **469-472**
 anticorpos, 471-472
 biotiniladas, 471-472
 hibridização a fragmentos de DNA, 469-470
 oligonucleotídeos, 470-472, 471-472f
 na anemia falciforme, 471-472, 472-473f
 Sondas de oligonucleotídeos
 na anemia falciforme, 471-472, 471-473f
 sintéticos, 470-472, 471-472f

Sorbitol, 345
 conversão de glicose em frutose via, 139-140, 140f
 e diabetes, 345
 hiperglicemia e, 140
 síntese de, 139-140
Sorbitol-desidrogenase, 139, 140
 Southern, transferência de, **472-473**, 484-485f
 detecção de mutações pela, 472-473
 procedimento experimental para, 472-473, 474f
 variantes, 472-473
 Spliceossoma, 426
 Substância basal, 157-158
 Substratos enzimáticos, 53
 Succinato, 112f
 oxidação do, 112f, 113
Succinato-desidrogenase, 75-76, 80, 80f, 113
Succinato-tiocinase (succinil-CoA-sintase), 112-113
 Succinil-CoA, 265-266
 clivagem da, 112-113, 112f
 conversão de propionil-CoA em, 265-266
 conversão do α -cetoglutarato em, 112, 112f
 formação de, no catabolismo de aminoácidos, 263-266, 264-265f
 na síntese de porfirinas, 278-279
 síntese de, 194-195
Succinil-CoA:acetoacetato-CoA-transferase (tioforase), 197
 Suco gástrico, 248
 Sulfametoxazol, 153
 Sulfatídeos, 209-210
 Sulfato, grupos
 adição de, na síntese de glicosíngolipídeos, 209-210, 209-210f
 adição de, na síntese de glicosaminoglicanos, 162
 nos sulfatídeos, 209-210
 Sulfidril, grupo, 18f, 19
 Sulfinpirazona, 301
 Sulfoglicosíngolipídeos, 209-210
 Sulfonamidas, 282
 como inibidores da síntese de purinas, 293, 294f
 como inibidores da síntese de tetra-hidrofolato, 374-375f
 Sulfonilureias, 310
Sulfotransferases, 162, 209-210
 Supercamundongo, 486
 Superfície celular, reconhecimento, 165, 165f
 Superóxido, conversão em peróxido de hidrogênio, 150
Superóxido-catalase, 148
Superóxido-dismutase (SOD), 73-74, 148, 150
 Supersecundária, estrutura, 18, 18f
 Supertorções, 400-401, 401f
 Surfactante pulmonar, 207
 fosfatidilcolina e, 203-204
 na síndrome da angústia respiratória, 203-204
 Svedberg, valores de, para o RNAr, 418

T

- TAG-sintase*, 176
- Talassemia(s), 38-39
- α , 39, 39f, 41-42f
 - e doença da hemoglobina H, 39, 39f
 - e hidropisia fetal, 39, 39f
 - portadores silenciosos da, 39
 - β , 38-39, 38f, 41-42f, 427
 - maior, 39
 - menor, 39
- Tampões, 6-7
- Tampões, pares, 8
- Tandem*, repetições em, 475, 476f
- TaqI*, especificidade da, 466, 466f
- Taq-polimerase*, 481-482
- TATA, caixa, 423
- Tau, proteína, 21
- Taurina, ácidos biliares conjugados à, 225, 225f
- Taxa metabólica, no repouso, 359-360, 359-360f
- Tecido adiposo
 - ácidos graxos no, como reserva de combustível, 189
 - como depósito de energia armazenada, 324-326
 - comunicação com outros órgãos metabólicos, 307, 307f
 - destino dos triacilgliceróis no, 189
 - hiperplasia do, 351-352
 - hipertrofia do, 351-352
 - hormônios do, e obesidade, 352-353
 - lipase lipoproteica* no, 228-229
 - na obesidade, 324-326
 - no diabetes melito,
 - tipo 1, 339, 339f
 - tipo 2, 343, 344
 - no estado absorvivo/alimentado, 324-326
 - metabolismo de lipídeos no, 325-326, 325-326f
 - metabolismo dos carboidratos no, 325-326, 325-326f
 - relações entre tecidos no, 328-329f
 - no jejum, 327-328, 330f, 331-332, 331-332f
 - metabolismo de carboidratos no, 331-332, 331-332f
 - metabolismo de lipídeos no, 331-332, 331-332f
 - relações entre tecidos no, 328-329f
 - no metabolismo energético, 307, 307f
 - papel metabólico do, 307
 - resistência à insulina e, 343
 - visceral, 350-351
- Tecidos, uso dos lipídeos da dieta pelos, 178
- Tecidos periféricos
 - transporte de amônia a partir dos, 253, 253f
 - utilização de corpos cetônicos por, 196, 197f
- Tecidos reprodutivos
 - síntese de colesterol nos, 220
 - vitamina A e, 384
- Telomerase*, 406-408, 407-408f
- Telômeros, 406-408
- Temperatura
 - de fusão
 - de ácidos graxos, 182
 - do DNA, 398, 398f
 - e desnaturação de enzimas, 57
 - e velocidade da reação, 57, 57f
- Temperatura de fusão do DNA, 398, 398f
- dos ácidos graxos, 182
- Terapia de hidratação, na anemia falciforme, 36
- Terapia de reposição enzimática, 163, 301, 471-472
- Terapia de reposição gênica, **484-485**, 486f
- Terapia gênica, **484-485**, 486f
- Terminação, códons de, 432, 432f
- Terminação dependente do fator ρ , 421
- Terminação independente do fator ρ , 421, 421f
- Termogênese sem tremor, 79
- Termogenina, 79
- Teste de tolerância à glicose, 338
- Testes de tolerância oral, para deficiências de enzimas digestivas, 88
- Testículos, secreção hormonal pelos, 237, 239-240, 239f
- Testosterona, 237, 237f, 239, 240f
- Tetraciclina, 440f
- Tetra-hidrobiopterina (BH_4), 151, 268, 270f
- Thermus aquaticus*, 481-482
- Tiamina, **378-379**, 392-393f
 - como coenzima, 378, 379f
 - deficiência de, 379, 393f
 - estrutura da, 378, 378f
 - forma ativa da, 378, 378f, 392f. *Veja também* Tiamina pirofosfato
 - função da, 378
 - indicações clínicas para a, 379
 - ingestão dietética de referência para a, 358-359f
- Tiamina pirofosfato (TPP), como coenzima,
 - para a desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada, 266-267f
 - para o complexo da α -Cetoglutarato-desidrogenase, 112, 378, 378f, 379f
 - para o complexo da piruvato-desidrogenase, 110-111, 378, 378f, 379f
- Tiamina pirofosfato (TPP), enzimas que requerem a, 147
- Tiazida, diuréticos, 299
- Timidilato-sintase*, 303
- Timidina, 408-409f
 - síntese de, fármacos inibindo a, 374-375f
 - via de salvação para a, 304
- Timidina-monofosfato (TMP), síntese de, 303-304, 304f, 374-375
- Timina, 291, 291f, 305f, 396f
 - dano e reparo da, 411-412
 - pareamento com adenina, 397, 397f, 398f
- Timina, dímeros de, 411-412
- Tiocinases*, 176, 189, 190
- Tioforase*, 197
- Tiogalactosídeo-transacetilase*, 450
- Tiorredoxina, 296-297, 296-297f
 - reduzida, regeneração de, 296-297, 296-297f
- Tiorredoxina-redutase*, 296-297, 296-297f
- Tirosina, 4-5, 4-5f
 - cadeias laterais da, 3f, 4-5
 - catabolismo da, 263-264, 263-264f
 - alterações no, 263-264
 - defeito metabólico no albinismo, 273
 - formação de melanina a partir da, 288
 - na fenilcetonúria, 272
 - síntese de, 268, 270f
 - síntese de catecolaminas a partir da, 285, 286f
- Tirosina-cinase*, 312
- Tirosinase (tirosina-hidroxilase)*
 - deficiência de, 271
 - na fenilcetonúria, 271
 - na síntese de catecolaminas, 285
- Tirosinemia tipo I, 268f, 269f
- Titulação de aminoácidos, 6-7f, 7-9, 8f
- Tocoferol, α , 391, 392f
- Tofos, 299
- Toxina diftérica, 441f
- Toxina tetânica, receptores de superfície celular para a, 208-209
- Tradução, do RNA mensageiro, 431-443, 431-432f, 459-460, 459-460f
 - componentes necessários, **433-437**
 - iniciação da, 437-439, 440f
 - passos na, 437-442, 440-441f
- Trans, ácidos graxos, 363-364, 363f
- Transaldolase*, 147
- Transaminação, de aminoácidos, 245, 250-252, 250f, 251f
 - de cadeia ramificada, 266-267
 - equilíbrio da reação, 251
- Transcetolase*, 146f, 147, 379f
- Transcortina, 237
- Transcrição, 395, 417, 417f
 - eucariótica, **422-424**
 - controle combinatório da, 454-455, 454-455f
 - estimuladores na, 424, 424f
 - promotores na, 422-423, 423f
 - regulação da, 449f, **453-461**
 - mapa conceitual para a, 429f
 - procariótica, **419-421**
 - alongamento, 420-421, 420f
 - como alvo de antibióticos, 421, 422f
 - iniciação da, 419-420, 420f
 - regulação da, 449f, **450-454**
 - terminação, 421, 421f
 - volta em forma de grampo e, 421, 421f
 - regulação da, 449-450
- Transcrição, unidade de, 419
- Transcrição gênica
 - elementos de resposta a hormônios e, 240, 241f
 - eucariótica, **422-424**
 - controle combinatório da, 454-455, 454-455f
 - estimuladores, 424, 424f
 - promotores, 422-423, 423f
 - regulação da, 449, **453-461**
 - procariótica, **419-421**
 - alongamento, 420-421, 420f
 - antibióticos direcionados à, 421, 422f
 - iniciação da, 419-420, 420f
 - regulação da, 449, **450-454**
 - terminação da, 421, 421f
 - volta em forma de grampo, 421, 421f
- Transcrição gênica em eucariotos, **422-424**
 - estimuladores na, 424, 424f
 - promotores da, 422-423, 423f
- Transcriptase reversa*, 407-408, 468-469, 468-469f
- Transdução de sinal
 - ceramidas na, 208
 - esfingosina na, 208, 208f
 - fosfatidilinositol na, 205-206, 205f
 - insulina na, 311f, 312
 - segundos mensageiros na, 94-97, 291
- Transfecção, 467
- Transferases*, 53f
- Transferência de Northern, 472-473, 482-483, 484-485f
- Transferência de Western, 472-473, 483-484, 484-485f
- Transferrina, receptor para (TfR), síntese de, 457-459, 457-458f
- Transformação, 467
- Transformilase*, 438-439
- Transfusões de sangue
 - 2,3-bisfosfoglicerato em, 31-32
 - e hemossiderose, 39
 - na anemia falciforme, 36
 - na β -talassemia, 39
- Transgênicos, animais, **486**
- Transição, estado de, em reações catalisadas por enzimas, 55f, 56
- estabilização do, sítio ativo e, 56
 - visualização do, 56, 56f
- Translocação, 438-439
- Transplantes, rejeição, prevenção de, 295f, 296
- Transportador, RNA (RNAt), 418, 418f
 - anticódon do, 434-435
 - bases incomuns do, 417f, 418, 425
 - como molécula de adaptação, 434-435
 - iniciador, 437-438, 440f
 - ligação antiparalela com o códon, 437, 437f
 - ligação de aminoácidos a enzimas necessárias para, 434-435, 434-435f
 - sítio para, 433-434f, 434-435
 - modificação pós-transcricional do, 425, 425f

- na síntese proteica, 434-435
reconhecimento do códon pelo, 434-435
síntese de, 425
sítios ribossomais de ligação ao, 436
- Transportador de glicose 1, dependente de sódio, 87-88
- Transportadores de glicose, 97-98, 97-98f
GLUT1, 97-98
GLUT2, 98-99, 310, 311
no estado absorvivo/alimentado, 322-323, 323-324f
GLUT3, 97-98
GLUT4, 97-98
GLUT5, 97-98
GLUT7, 97-98
GLUT14, 97-98
isoformas dos, 97-98
funções especializadas de, 97-98
sensíveis à insulina, 312, 312f
- Transportadores de glicose dependentes de insulina (GLUT4), proteínas, 331-332
- Transporte ATP-ADP, 79
- Transporte de glicose por difusão facilitada independente de sódio, 96-98, 97-98f
sistema de cotransporte sódio-monossacarídeo, 96-98
- Transpósons (Tn), 407-408, 460-461
- Trealase, 87-88
- Trealose, 87-88
- Treonina, 4-5
cadeias laterais da, 3f, 4-5
catabolismo da, 263-266
degradação de proteínas contendo, 247
- Treponema pallidum*, 202
- Tretinoína, 385, 385f
- Triacilglicerol (TAG), 173, 173f
ácidos graxos componentes dos, 181-183, 188-189
liberação dos, 189-190, 190f
armazenado, mobilização do, 189-195
armazenamento de, 188-189
degradação de, 92f, 175, 181f, 199f
insulina e, 311
no estado absorvivo/alimentado, 325-326
no jejum, 331-332, 331-332f
pela lipase lipoproteica, 228-229
regulação hormonal da, 190, 190f
destino dos, no fígado vs. tecido adiposo, 189
emulsificação dos, 175, 224
estrutura dos, 188, 188f
insulina e, 189, 190f
metabolismo de, 173-178, 180f
na dieta, 361-364
e doença cardíaca coronariana, 360-361, 361f
na obesidade, 353
nas lipoproteínas plasmáticas, 227, 227f
niacina e, 380
- níveis elevados de, 228-229, 339f, 340, 344, 345f
no diabetes melito
tipo 1, 339, 339f
tipo 2, 344, 345f
no estado absorvivo/alimentado, 321-322
no jejum, 329-332, 331-332f
nos adipócitos, 350-351
nos quilomicra, 228-231, 229f, 232f
processamento no estômago, 173-174, 174f
ressíntese de, 176-177
secreção dos enterócitos, 177, 177f
síntese de, 92f, 181f, 188-189, 188f, 189f, 199f
no estado absorvivo/alimentado, 324-326, 325-326f
transferência das VLDL para HDL, 231, 231f
uso pelos tecidos, 178
- Trimetoprim, 293
inibição da síntese de tetra-hidrofolato pelo, 374-375f
- Triose-fosfato-isomerase*, 101
- Tripanosomos, 206
- Tripsina*, 16f, 442-443
inibição da, 50
na digestão de lipídeos, 175
na digestão de proteínas, 248, 249f
pH ótimo para a, 58f
- Tripsinogênio, 442-443
- Triptofano
cadeias laterais do, 2f
catabolismo do, 266-267
rompendo a α -hélice, 17
síntese de serotonina a partir do, 287, 287f
- Triptofano-hidroxilase*, 271
- Triptofano-pirrolase*, 277
- Troca de cátions, cromatografia por, 14-15, 15f
- Troca iônica, coluna de troca de ânions, 14
- Trombogênese
gorduras poli-insaturadas n-6 e n-3 e, 363, 364f
prostaglandinas e, 214
- Tromboxano (s), 213-214
gorduras poli-insaturadas n-6 e n-3 e, 363, 364f
síntese de, 213-214, 215f
TXA₂, 213f, 214, 215f
produção por plaquetas ativadas, 214
- Tropocolágeno, 47-48f, 48
- Tropomiosina (TM), 427, 456-457
- Troponina I cardíaca (TnIc), 66
- Troponina I e troponina T, 66
- TTP, síntese de, 459-461
- Tuberculose, isoniazida para a, 377f, 378
- Tubo neural, defeitos do, 265-266, 375-376, 393f, 476
- Tunicamicina, 167
- U**
- Ubiquinona. *Veja* Coenzima Q
- Ubiquitina, 247, 443-444
- Ubiquitinação, 443-444
- Ubiquitina-proteassomo, via proteolítica, 246-247, 247f
- UCP1 (termogenina), 79
- UDP-Ácido glicurônico, 161, 162f
- UDP-Galactose, 166
como fonte de carbonos para a glicólise ou a gliconeogênese, 140-141
em reações biossintéticas, 141
estrutura da, 141f
formação da, 140, 141f
- UDP-Galactose:glicose galactosil-transferase*, 142
- UDP-Glicose, 166
estrutura da, 127f
síntese da, 126
- UDP-Glicose-pirofosforilase*, 126
- UDP-Hexose 4-epimerase*, 140, 141
- UDP-N-Acetilgalactosamina, 166
- UDP-N-Acetilglicosamina, 166
- Ultravioleta, luz, reparo de dano causado pela, 411-412, 411-412f
- Unidade β - α - β , 18f
- Unidades de um carbono, 267-268
ácido fólico como carregador de, 267-268
- Uracil, 291, 291f, 292f, 305f
em códons/código genético, 431-432, 432f
- Urato-oxidase*, 297-298
- Urease*, 255, 257
- Ureia, 253
destino da, 255
eliminação de amônia como, 253, 257, 257f
- Uridil-transferase*, 141
- Uridina-difosfato (UDP)
ligada à galactose, 140-141, 141f
ligada à glicose, 126, 127f
- Uridina-monofosfato (UMP)
forma desoxi da (dUMP), 302-303, 304f
na síntese de pirimidinas, 302, 303f
- Uridina-monofosfato-sintase*, 302-303
- Uridina-trifosfato (UTP)
na síntese de glicogênio, 126, 127f
síntese de, 303, 303f, 304f
- Urobilinas, formação no intestino, 283-284
- Urobilinogênio, 283f, 284
na icterícia, 284
- Urolitíase, 297-298
- Uronosil 5-epimerase*, 161
- Uroporfirina, 277
- Uroporfirina I, 278-279, 278-279f
- Uroporfirina III, 278-279, 278-279f
- Uroporfirinogênio, 279
- Uroporfirinogênio-descarboxilase*, deficiência de, 280, 281f
- Uroporfirinogênio-III, 279f
- Uroporfirinogênio-III-sintase*, deficiência de, 281f
- Uroporfirinogênio-III-sintase*, 279
- UTP difosfatase*, 303
- uvrABC-excinuclease*, 411-412
- V**
- Valilalanina, 14, 14f
- Valilglicileucina, 14
- Valina, 265-266
cadeias laterais da, 2f
catabolismo da, 266-268, 266-267f
ligação peptídica com a alanina, 13, 14f
no estado absorvivo/alimentado, 324-325
rompimento de α -hélice pela, 17
substituindo o glutamato, na anemia falciforme, 36, 36f
- Valina, terapia na doença do xarope do bordo, 273
- Van den Bergh, reação de, 285
- Vanádio, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- Varfarina, 389
- “Vazamento de prótons”, 79
- Velocidade de reação, 55
- Velocidade de reações enzimáticas
concentração da enzima e, 59
concentração de substrato e, 57, 57f, 58-59, 59f
curva de cinética hiperbólica, 57, 57f
fatores que afetam a, **56-58**
inibição competitiva e, 60-61, 60f
inibição não competitiva e, 61-62, 61f
inicial, 57, 59
máxima ($V_{\text{máx}}$), 57, 57f
pH e, 57-58, 58f
temperatura e, 57, 57f
- Velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$)
de reações catalisadas por enzimas, 57, 57f
inibição competitiva, 60, 60f
inibição não competitiva, 61, 61f
efetores alostéricos e, 62-63, 62f
- Versican, 158
- Vetor de expressão, 469-470, 469-470f
- Vetores, 467-468
clonagem, 468
expressão, 469-470, 469-470f
plasmídeos procarióticos, 467, 467f
- Vias, 91, 93. *Veja também* vias específicas
- Vias bioquímicas, 54f
- Vibrio cholerae*, 94
- Vidarabina, 408-409
- Vilosidades coriônicas, amostragem, 476, 476-477f
- Vírus da imunodeficiência humana (HIV), 407-408
detecção de exposição ao, 483-484, 484-485f
RNA de interferência e, 458-459
- Visão, vitamina A e, 382, 383f, 384
- Vitamina A, 373, **381-386**, 392-393f
absorção de, 382, 383f
armazenamento da, 383f

- deficiência de, 384-385, 385f, 393f
distribuição de, 384
e células epiteliais, 384
e crescimento, 384
e prevenção de doença crônica, 384-385, 385f
e reprodução, 384
e visão, 382, 383f, 384
estrutura, 382, 382f
funções da, 382-384, 383f, 392f
indicações clínicas para a, 384-385, 385f
ingestão dietética de
e risco de câncer, 391
excessiva, 375-376, 385-386
fontes, 383f, 384
necessidades, 358-359f, 384
mecanismo de ação, 382, 383-385f
suplementação, 384, 391
toxicidade, 385-386, 393f
transporte, 382, 383f
uso dermatológico de, 385, 385f, 386
- Vitamina B₁. *Veja* Tiamina
- Vitamina B₁₂
para a homocistinúria, 273
- Vitamina B₁₂ (desoxiadenosilcobalamina), 194
- Vitamina B₁₂, 265-266, **375-376-377**
absorção da, 376-377f, 377
como coenzima, 375-376, 375-377f
na síntese de succinil-CoA, 194-195, 195f
deficiência de, 375-377, 393f
e anemia, 374-375, 377
hipótese da captura do folato, 376-377
distribuição da, 376-377
e anemia megaloblástica, 375-376
estrutura da, 375-376, 376-377f
formas ativas da, 375-376, 376-377f, 392f
função da, 392f
- indicações clínicas, 376-377
ingestão dietética de
e risco cardiovascular, 265-266, 265-266f
fontes de, 376-377
ingestão dietética de referência para a, 358-359f
na homocistinúria, 273
síntese da, 376-377
suplementação com, 391
- Vitamina B₂. *Veja* Riboflavina
- Vitamina B₆, **378**, 392-393f
deficiência de, 378, 393f
estrutura da, 377f, 378
forma ativa da, 377f, 378, 392f
função da, 392f
indicações clínicas, 378
ingestão dietética de
e risco cardiovascular, 265-266
ingestão dietética de referência para a, 358-359f
na homocistinúria, 273
para a homocistinúria, 273
síntese de cisteína e, 265-266
suplementação com, 391
toxicidade da, 378
- Vitamina C, **377-378**, 392-393f
como antioxidante, 148-149, 377-378, 391
como coenzima, 377
deficiência de, 377, 377f, 393f
e biossíntese do colágeno, 47-48, 47-48f, 377
e prevenção de doença crônica, 377-378
estrutura da, 377, 377f
forma ativa da (ácido ascórbico), 377, 377f, 392f
função da, 377
ingestão dietética de
e risco de câncer, 378, 391
ingestão dietética de referência para a, 358-359f
suplementação com, 391
- Vitamina D, 373, **386-389**, 392-393f
ação intestinal da, 388
ação nos ossos, 388
- colesterol como precursor da, 219-220
deficiência de, 388-389, 389f, 393f
distribuição, 386, 388
e cálcio, 386, 388, 388f
função da, 387f, 388, 392f
hidroxilação, 149
indicações clínicas de, 388-389
ingestão dietética de
excessiva, 373, 389
fontes de, 386
ingestão dietética de referência para a, 358-359f
metabolismo da, 386-388, 387f
regulação do, 386-388
na regulação da transcrição, 455-456
precursores endógenos da, 386
suplementação com, 391
toxicidade da, 389, 393f
- Vitamina E, 148, **391**, 392-393f
como antioxidante, 148-149, 377, 391
deficiência de, 391, 393f
distribuição, 391
estrutura da, 391, 391f
forma ativa da, 392f
função da, 391, 392f
indicações clínicas de, 391
ingestão dietética de
e risco de câncer, 391
fontes de, 391
ingestão dietética de referência para a, 358-359f
necessidades, 391
suplementação com, 391
toxicidade, 391, 393f
- Vitamina K, 373, **389-391**, 392-393f
deficiência de, 390, 393f
no recém-nascido, 390
distribuição, 390
e coagulação do sangue, 389, 390f
função da, 389-390, 392f
indicações clínicas de, 390
- ingestão dietética de
fontes de, 390
necessidades, 358-359f, 390
na formação de γ -carboxiglutamato, 389, 389f
toxicidade da, 391, 393f
- Vitamina K, carboxilação dependente da, 443-444
- Vitamina(s), **373-394**, 392-393f
classificação das, 373, 373f
coenzimas e, 54
hidrossolúveis, 373, 373f, 392-393f
lipossolúveis, 373, 373f, 392-393f
suplementos de, 391
- Vitaminas hidrossolúveis, 373, 373f, 392-393f
- Vitaminas lipossolúveis, 373, 373f, 392-393f
- VLDL. *Veja* Lipoproteínas de densidade muito baixa
-
- ## X
- Xantina, 299
Xantina-oxidase, 299, 300f, 301
Xaropes de milho 55 e 42, com alto conteúdo de frutose, 365
Xenobióticos, 149
Xeroderma pigmentoso, 411-412, 411-412f
Xeroftalmia, 384-385, 393f
Xilosiltransferase, 162
D-Xilulose 5-fosfato, 161
-
- ## Z
- Z-DNA, 398, 399f, 459-460
Zidovudina (AZT), 408-409, 408-409f
Zimogênios, 64, 442-443
ativação dos, 248
gástricos, 248
na digestão de proteínas, 248
pancreáticos, 248, 249f
- Zinco, ingestão dietética de referência para o, 358-359f
- Zíper de leucina, 423, 450, 456-457
- Zwitterion, 7, 7f

Fontes das Figuras

Figura 2.12: Modificada de Garrett, R.H. e Grisham, C.M. *Biochemistry*. Saunders College Publishing, 1995. Figura 6.36, pág. 193.

Figura 2.13 (painel C, parte superior): Abdulla, S. Basic mechanisms of protein folding disease. Nature Publishing Group.

Figura 3.1A: Ilustração: Irving Geis. Detentor dos direitos: Howard Hughes Medical Institute. Não deve ser usada sem permissão.

Figura 3.20: Fotografia, cortesia de Photodyne Incorporated, Hartland, WI.

Figura 3.21: Corbis

Figura 4.3: Micrografia eletrônica do colágeno: Natural Toxin Research Center. Texas A&M University - Kingsville. Molécula do colágeno modificada de Mathews, C.K., van Holde, K.E. e Ahern, K.G. *Biochemistry*. 3ª. Ed., Addison Wesley Longman, Inc. 2000. Figura 6.13, pág. 175.

Figura 4.4: modificada de Yurchenco, P.D., Birk, D.E., e Mecham, R.P., eds. (1994), *Extracellular Matrix Assembly and Structure*, Academic Press, San Diego, California.

Figura 4.8: Kronauer e Buhler, *Images in Clinical Medicine*, The New England Journal of Medicine, 15 de junho de 1995, Vol. 332, Nº 24, pág. 1.611.

Figura 4.10: Fotografia do *Website* Derma.de

Figura 4.11: Jorde, L.B., Carey, J.C., Bamshad, M.J. e White, R.L. *Medical Genetics*, 2ª. Ed. <http://medgen.genetics.utah.edu/index.htm>

Questão 4.3: de Berge, L.N, Marton, V., Tranenjaerg, L., Kearney, M.S., Kiserud, T., Oian, P. Prenatal diagnosis of osteogenesis imperfecta. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 74(4):321-3, abril de 1995.

Figura 13.11: The Crookston Collection, Universidade de Toronto.

Figura 17.13: Urbana Atlas of Pathology, Faculdade de Medicina da Universidade de Illinois, em Urbana - Champaign. Imagem número 26.

Figura 17.19: Interactive Case Study Companion to Robbins Pathologic Basis of Disease.

Figura 18.12: Custom Medical Stock Photo.

Figura 20.20: Success in MRCO phth. <http://www.mrcophth.com/iriscases/albinism.html>

Figura 20.22 (parte superior): Rubin, E. e Farber, J.L. *Pathology* (2ª edição). J.B. Lippincott. 194. Figura 6-30, pág. 244.

Figura 20.22 (parte inferior): Gilbert- Barness, E. e Barness, L. *Metabolic Disease*. Eaton Publishing, 2000. Figura 15, pág. 42.

Figura 21.6: Rich, M.W. Porphyrria cutanea tarda, *Postgraduate Medicine*, 105: 208-214 (1999).

Figura 21.5: Departamento de Dermatologia, Universidade de Pittsburgh. <http://www.upmc.edu/dermatology/MedStudentInfo/introLecture/enlarged/vespct.htm>.

Figura 21.10: Custom Medical Stock Photo, Inc.

Figura 21.13: Phototake.

Figura 22.16: Wuthrich, D.A. e Lebowitz. Tophaceous gout. *Images in clinical Medicine*. N Engl J Med, 332:646, 1995.

Figura 22.17: WebMD Inc.

<http://www.samed.com/sam/forms/index.htm>

Figura 22.18: Corbis.

Figura 23.2: Childs, G.

<http://www.cytochemistry.net/>.

Figura 24.4: Phototake.

Figura 26.6: Corbis.

Figura 27.20: Joseph E. Armstrong, Universidade Estadual de Illinois.

Figura 28.4: Matthews, J.H. Departamento de Medicina, Queen's University, Divisão de Hematologia/Oncologia, Kingston, Canadá.

Figura 29.7: Nolan, J., Departamento de Bioquímica, Universidade de Tulane, Nova Orleans, LA.

Figura 23.13: Modificada de Cryer, P.E., Fisher, J.N. e Shamoon, H. Hypoglycemia. *Diabetes Care* 17:734-753, 1994.